

RODRIGO ANDREOLLI DE CAMPOS

Otimização de método de extração de óleo presente em polpa de abacate

Dissertação apresentada ao Instituto de Química,
Universidade Estadual Paulista, como parte dos
requisitos para obtenção do título de Mestre em
Química

Orientador: Prof. Dr. Arnaldo Alves Cardoso
Co-Orientador: Prof. Dr. Manoel Lima de Menezes

Araraquara

2009

RODRIGO ANDREOLLI DE CAMPOS

Dissertação apresentada ao Instituto de
Química, Universidade Estadual Paulista,
como parte dos requisitos para obtenção do
título de Mestre em Química.

Araraquara, 11 de agosto de 2009.

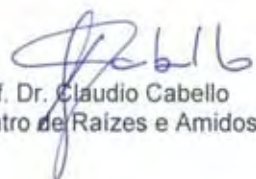
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Manoel Lima de Menezes (Co-Orientador)
Faculdade de Ciências – UNESP, Bauru



Prof. Dr. Valdecir Farias Ximenes
Faculdade de Ciências – UNESP, Botucatu



Prof. Dr. Claudio Cabello
Centro de Raízes e Amidos Tropicais – UNESP, Botucatu

DEDICO ESTE TRABALHO

À Deus, por me guiar e ser razão em minha vida.

Ao meu pai, Roberto, meu eterno exemplo, o homem que um dia quero ser.

À minha mãe, a maior e melhor mulher do mundo, “a coluna” de minha vida.

À minha futura esposa, Vivian, por este amor sem fim que me faz seguir em busca dos meus sonhos, pelo apoio incondicional, pelo carinho, pela paciência e acima de tudo, por ser essa pessoa doce, que mudou minha vida.

Ao meu irmão e cunhada, Rafael e Renata, que mesmo de longe, me apóiam e torcem pelo meu sucesso.

Aos meus avós, Décio e Gercina (in memoria), que mesmo com pouco estudo, sempre me incentivaram a estudar, dizendo sempre para eu “caprichar” naquilo que fazia.

Ao meu sogro e sogra, Nilson e Sueli, pelo carinho e apoio em todos os momentos, e por me receberem de braços abertos em sua casa.

Ao meu cunhado e cunhada, Branco e Simone, por serem grandes amigos em vários momentos de minha vida

Aos eternos amigos, Gustavo, Rodolfo, Thiago, Daniel, Hilton, Cristiano, Rafinha, Hugo, pela convivência, pela paciência, pela cumplicidade e apoio nos momentos alegres e tristes.

Ao profº Dr. Manoel Lima de Menezes, que sempre foi muito mais que um orientador, um amigo, um companheiro, que jamais mediu esforços em me ajudar, pela sua paciência e sabedoria, pelos ensinamentos de química e vida.

Dedico também a todas as pessoas que não foram citadas aqui, mas que de certa forma fizeram parte da minha vida, alguns passaram rapidamente, outros permaneceram por mais tempo, mas com certeza todos deixaram marcas, lembranças e ensinamentos que guardarei para sempre.

Muito obrigado.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador e co-orientador, pela confiança e amizade, e pelos ensinamentos passados.

Aos professores da pós-graduação, por todo o conhecimento que adquiri graças a vocês.

Aos colegas de classe e de trabalho, pela ajuda, pela amizade, e por contribuírem diretamente no meu aprendizado.

Ao Instituto de Química, e seu corpo de funcionários, que sempre estavam dispostos a me atender.

**“Não se pode ensinar tudo a alguém,
pode-se apenas ajudá-lo a encontrar
por si mesmo o caminho.”**

Galileu Galilei

RESUMO

Os óleos e as gorduras têm sido reconhecidos como nutrientes essenciais tanto na dieta animal como na humana e constituem a mais concentrada fonte de energia conhecida. O abacate é uma fruta tropical muito rica em nutrientes, sua árvore é conhecida como abacateiro, que pertence a família da *laureáceas*. O Brasil é o terceiro produtor mundial do abacate, possui uma produção de ordem de 500 milhões de fruto por ano. O óleo de abacate é extraído quando os frutos estão maduros, isto é, com consistência mole, que é quando apresentam teores mais elevados de óleo. O principal obstáculo para obtenção do óleo é o alto teor de umidade que afeta o rendimento da extração.

O presente trabalho tem por objetivo, otimizar técnicas de extração de óleo da polpa de abacate e assim comparar os resultados com o método recomendado de acordo com AOAC e realizar a determinação de ácidos graxos na polpa de abacate por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama. Para tanto, foram utilizadas quatro tipos de extração, a primeira por aparelho Soxhlet variando o solvente; a segunda, por aparelho Soxhlet com adição prévia da enzima celulase; a terceira, por maceração com fricção e a última por tratamento em banho de ultra-som. Os rendimentos obtidos foram superiores em até 46,3%(m/m) em comparação com o método recomendado por AOAC, sendo que as extrações que apresentaram melhores resultados foram a maceração por fricção e o tratamento com banho de ultra-som, ambas a partir da amostra com a umidade reduzida em forno microondas. A derivação dos ésteres de ácidos graxos foi feita segundo método de Hartman e Lago. A melhor separação dos ésteres de ácidos graxos estudados foi obtida empregando um sistema de cromatografia gasosa, coluna cromatográfica ZB-5HT - (15m x 0,25mm x 0,25µm) com "Guard Column" de Sílica fundida (5m x 0,52mm) e detector de ionização de chama. Os ácidos graxos que foram quantificados na amostra de polpa de abacate são os ácidos linoléico, oléico, esteárico e palmítico. O ácido graxo de maior concentração na polpa de abacate foi o linoléico com teor de até 50,3%, e o ácido graxo de menor concentração na polpa de abacate foi o oléico com teor de 0,27%.

Palavras-chave: Abacate. Óleo de abacate. Ácido graxo. Polpa de abacate.

ABSTRACT

The oils and the fats have been recognized as essential nutrients in such a way in the animal diets as in the human being ones and they constitute the most known concentrated source of power. The avocado is a very rich tropical fruit in nutrients, its tree is known as avocado tree, that belongs to the *laureaceae* family. Brazil is the third world-wide producer of avocado, which has a production of about 500 million fruit per year. The avocado oil is extracted when the fruits are mature, that is, with a soft consistency, when they present higher oil contents. The main obstacle for the attainment of the oil is the high content of humidity that affects the income of the extraction. The present project has as an aim, the acid extraction and determination of fatty acid in the pulp of avocado for gaseous chromatography with detector of ionization of flame. For such a way, four types of extraction have been used, the first one for Soxhlet varying the solvent; the second, for Soxhlet with previous addition of the cellulose enzyme; the third, for maceration and the last one for sonication. The amounts of extracted oil have been compared with the gravimetrical method using Soxhlet, recommended in accordance with AOAC. The obtained results have been superior up to 46,3% (m/m), whereas the extractions that presented better results were the maceration and the sonication, both from the dehydrated sample in microwaves. The derivation of esters of fatty acid was made according to the method of Hartman and Lago. The best separation of studied esters of fatty acid was obtained by using the Gaseous Chromatography system, chromatographic column ZB-5HT - (15m x 0,25mm x 0,25 μ m) with Guard Column of fused silica (5m x 0,52mm) and detector of ionization of flame. The fatty acid that were quantified in the sample of the avocado pulp are linoleic, oleic, estearic and palmitic acids. The highest concentration of fatty acid in the avocado pulp was the linoleic acid with a content up to 50,3%, and the least one was the oleic with a content of 0,27%.

Keywords: Avocado. Avocado oil. Fatty acid. Pulp of avocado.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Foto do óleo de abacate extraído de diversas amostras do fruto adquirido em mercados da cidade de Bauru.....	20
Figura 2: Fórmula estrutural dos ácidos esteárico, linoléico, oléico e palmítico	21
Figura 3: Fluxograma do procedimento de extração por aparelho Soxhlet empregando hexano, etanol, metanol e misturas entre eles.....	27
Figura 4: Fluxograma do procedimento de extração, com adição prévia da enzima celulase	28
Figura 5: Fluxograma do procedimento de extração por maceração com fricção após redução de umidade em forno microondas	29
Figura 6: Fluxograma do procedimento de extração por tratamento em banho de ultra-som após redução da umidade em forno microondas	30
Figura 7: Fluxograma do procedimento de extração por tratamento em banho de ultra-som seguida de maceração com fricção após redução de umidade em forno microondas.....	31
Figura 8: Gráfico obtido em função do solvente extrator, massa da amostra e teor de óleo	44
Figura 9: Gráficos indicativos do tempo gasto na realização da extração de óleo da polpa de abacate.....	45
Figura 10: Cromatogramas obtidos após a injeção de 1µL de cada solução padrão dos ésteres: estearato de etila, linoleato de etila, palmitato de etila e oleato de etila, com concentrações de 100mg/L	47
Figura 11: Cromatograma obtido após a injeção de 1µL de uma mistura de soluções padrão contendo 500mg/L de estearato, linoleato, palmitato e oleato de etila.....	48
Figura 12: Curva analítica do palmitato de etila após injeção de 1µL das soluções padrão no sistema de CG no intervalo de 15 à 2000mg/L nas condições cromatográficas otimizadas.....	49
Figura 13: Curva analítica do oleato de etila após injeção de 1µL das soluções padrão no sistema de CG no intervalo de 15 à 2000mg/L nas condições cromatográficas otimizadas.....	50
Figura 14: Curva analítica do linoleato de etila após injeção de 1µL das soluções padrão no sistema de CG no intervalo de 15 à 2000mg/L nas condições cromatográficas otimizadas.....	51

- Figura 15:** Curva analítica do estearato de etila após injeção de 1 μ L das soluções padrão no sistema de CG no intervalo de 15 à 2000mg/L nas condições cromatográficas otimizadas.....52
- Figura 16:** Gráfico obtido para fator de resposta (área/concentração) em função da concentração do estearato de etila na faixa de linearidade de 15 à 2000mg/L com os respectivos desvios56
- Figura 17:** Gráfico obtido para fator de resposta (área/concentração) em função da concentração do linoleato de etila na faixa de linearidade de 15 à 2000mg/L com os respectivos desvios57
- Figura 18:** Gráfico obtido para fator de resposta (área/concentração) em função da concentração do oleato de etila na faixa de linearidade de 15 à 2000mg/L com os respectivos desvios58
- Figura 19:** Gráfico obtido para fator de resposta (área/concentração) em função da concentração do palmitato de etila na faixa de linearidade de 15 à 2000mg/L com os respectivos desvios59
- Figura 20:** Cromatograma obtido após a injeção de 1 μ L de solução padrão de 500mg/L de palmitato, oleato, linoleato e estearato de etila no sistema de cromatografia gasosa.....60
- Figura 21:** Cromatograma obtido após a injeção de 1 μ L de amostra diluída (1:10).62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Condições cromatográficas usada para a separação dos ésteres de ácidos graxos originados a partir do óleo de abacate	33
Tabela 2: Avaliação da extração do óleo da polpa de abacate por aparelho Soxhlet empregando diferentes solventes	35
Tabela 3: Avaliação da extração do óleo da polpa de abacate previamente hidrolisada com a enzima celulase por aparelho Soxhlet	36
Tabela 4: Avaliação da extração do óleo da polpa de abacate por aparelho Soxhlet após determinação da umidade	37
Tabela 5: Avaliação da extração do óleo da polpa de abacate por aparelho Soxhlet, com previa redução de umidade em forno microondas.....	39
Tabela 6: Avaliação da extração do óleo da polpa de abacate com previa redução de umidade em forno microondas, seguido por maceração com fricção	40
Tabela 7: Avaliação da extração do óleo da polpa de abacate com previa redução de umidade em forno microondas, seguido por tratamento em banho de ultra-som.....	41
Tabela 8: Avaliação da extração do óleo da polpa de abacate com previa redução de umidade em forno microondas, seguido por tratamento em banho de ultra-som e posterior maceração com fricção	43
Tabela 9: Estudo da linearidade da resposta para o sistema de cromatografia gasosa com o detector de ionização de chama (FID) para a determinação do estearato de etila	53
Tabela 10: Estudo da linearidade da resposta para o sistema de cromatografia gasosa com o detector de ionização de chama (FID) para a determinação do linoleato de etila	53
Tabela 11: Estudo da linearidade da resposta para o sistema de cromatografia gasosa com o detector de ionização de chama (FID) para a determinação do oleato de etila	54
Tabela 12: Estudo da linearidade da resposta para o sistema de cromatografia gasosa com o detector de ionização de chama (FID) para a determinação do palmitato de etila	54
Tabela 13: Exatidão do método obtido através da relação fator resposta com a inclinação da curva analítica.....	60
Tabela 14: Limite de detecção e limite de quantificação para os ésteres de palmitato, oleato, linoleato e estearato de etila.....	61

Tabela 15: Avaliação do teor de ésteres de ácidos graxos presentes em duas espécies de abacate	63
---	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 Abacate	15
1.2 Óleos e Gorduras	16
1.3 Óleos de Abacate.....	19
1.3.1 Características sensoriais.....	20
1.3.2 Composição do óleo de abacate	20
1.4 Considerações sobre os métodos para extração de óleo de abacate.....	22
2 OBJETIVOS DO TRABALHO	24
3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	25
3.1 MATERIAIS E MÉTODOS	25
3.1.1 Reagentes.....	25
3.1.1.1 Preparação das soluções padrão estoque de ésteres de ácidos graxos	25
3.1.1.2 Preparação da polpa de abacate	25
3.1.2 Métodos	26
3.1.2.1 Extração do óleo da polpa de abacate com aparelho Soxhlet empregando etanol, metanol, hexano e misturas entre eles.....	26
3.1.2.2 Extração do óleo da polpa de abacate com aparelho Soxhlet após adição da enzima celulase	27
3.1.2.3 Extração do óleo da polpa de abacate com aparelho Soxhlet a partir da amostra seca.....	28
3.1.2.4 Extração do óleo da polpa de abacate com aparelho Soxhlet após redução de umidade em forno microondas	28
3.1.2.5 Extração do óleo da polpa de abacate por maceração com fricção após redução de umidade em forno microondas	29
3.1.2.6 Extração do óleo da polpa de abacate por tratamento em banho de ultra-som após redução de umidade em forno microondas	30
3.1.2.7 Extração do óleo da polpa de abacate por tratamento em banho de ultra-som, seguida de maceração com fricção após redução de umidade em forno microondas utilizando duas variáveis: solvente extrator (apolar) e massa da amostra	31
3.1.2.8 Determinação do teor de óleo presente na polpa de abacate	32
3.1.2.9 Preparação da amostra de óleo de abacate para a determinação de ácidos graxos	32

3.1.2.10 Condições cromatográficas para a otimização da separação dos ésteres de ácidos graxos, sintetizados a partir do óleo extraído da polpa de abacate	32
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
4.1 Avaliação dos métodos de extração	34
4.1.1 Avaliação da extração do óleo da polpa de abacate com aparelho Soxhlet empregando etanol, metanol, hexano e misturas entre eles.....	34
4.1.2 Avaliação da extração do óleo da polpa de abacate previamente hidrolisada com a enzima celulase por aparelho Soxhlet	36
4.1.3 Avaliação da extração de óleo da polpa de abacate desidratada empregando uma estufa de aquecimento.....	37
4.1.4 Avaliação da extração de óleo da polpa de abacate com redução de umidade um forno microondas por aparelho Soxhlet.....	38
4.1.5 Avaliação da extração de óleo da polpa de abacate por maceração com fricção após redução de umidade em forno microondas.....	40
4.1.6 Avaliação da extração de óleo da polpa de abacate por tratamento em banho de ultra-som após redução de umidade em forno microondas	41
4.1.7 Avaliação da extração de óleo da polpa de abacate por tratamento em banho de ultra-som, seguido de maceração com fricção após redução de umidade em forno microondas utilizando duas variáveis: solvente extrator (apolar) e massa da amostra	42
4.2 Otimização cromatográfica.....	46
4.2.1 Curvas analíticas para as soluções padrão dos ésteres de ácido graxo: palmitato, oleato, linoleato e estearato de etila	48
4.3 Determinação do limite de detecção e quantificação do método proposto para determinação dos ésteres de palmitato, oleato, linoleato e estearato de etila	61
4.4 Avaliação do teor de ácidos graxos presentes na polpa de abacate	61
5 CONCLUSÃO	64
6 REFERÊNCIAS.....	66

1 INTRODUÇÃO

1.1 Abacate

O abacate é uma fruta tropical muito rica em nutrientes, sua árvore é conhecida como abacateiro, que pertence a família da *laureáceas*. O abacateiro é nativo do México e da América do Sul, sendo esta responsável por 94% da produção mundial do abacate, hoje é extensamente cultivado e muito popular no Brasil. O Brasil é o terceiro maior produtor mundial do abacate, possui uma produção de ordem de 500 milhões de fruto por ano. A maioria desta produção é desperdiçada, sendo que a fruta poderia estar sendo aproveitada como alimento e/ou para extração de azeite medicinal, que é eficaz na prevenção e tratamento de uma série de doenças como a hiperplasia prostática, câncer e distúrbios de colesterol.

O abacateiro é cultivado em quase todos os Estados do Brasil. Trata-se de uma planta frutífera das mais produtivas por unidade de área cultivada (TANGO e TURATTI, 1992). Um grande número de variedades de abacate é encontrado nas diversas regiões do território nacional, cujos frutos apresentam composição química muito variável. Estudo anteriormente realizado com algumas variedades cultivadas no Estado de São Paulo mostrou grande variação quanto aos teores de lipídeos na polpa dos frutos (TANGO et al., 1972). Frutos que apresentam altos teores de lipídeos na polpa poderão constituir-se em uma matéria-prima importante para obtenção de óleo, considerando-se a quantidade de óleo que pode ser obtida por unidade de área cultivada, a qual, de acordo com estudos comparativos realizados por Canto e colaboradores, com algodão, amendoim e soja, é bem mais elevada do que de qualquer dessas sementes oleaginosas cultivadas (CANTO et al., 1980). Além do que, trata-se o abacateiro de uma planta perene, podendo ser cultivada em áreas de topografia acidentada, e o óleo de seus frutos apresenta interessantes características químicas (TANGO e TURATTI, 1992).

1.2 Óleos e Gorduras

Os óleos e as gorduras têm sido reconhecidos como nutrientes essenciais tanto na dieta animal como na humana. Constituem a fonte de energia mais concentrada conhecida. Comportam ácidos graxos essenciais (precursores de importantes hormônios, as prostaglandinas), influem em grande medida sobre o sabor dos alimentos, transportam vitaminas lipossolúveis e tornam os alimentos mais apetitosos. Os óleos e as gorduras estão presentes nos alimentos em quantidades muito variadas. As principais fontes de gordura na dieta humana são: carnes, produtos lácteos, frango, pescado, frutas secas e óleos e gorduras vegetais. A maioria das verduras e frutas secas contém pequenas quantidades de gordura. Dados do Departamento Norte Americano de Agricultura e do Departamento de Saúde e Serviços Humanos (ZILLER, 1995) sugerem que o consumo anual de gorduras é responsável por cerca de 34% das calorias totais na dieta humana. O conhecimento da composição química de óleos e de gorduras, e das fontes a partir das quais são obtidos, são essenciais para compreender a nutrição e a bioquímica destes.

A indústria de óleos vegetais ocupa um lugar estratégico no contexto da indústria alimentícia: elabora um produto para consumo final e é um insumo fundamental para a indústria de alimentos. Óleos, farelos e seus derivados são alimentos usados na alimentação humana por conterem proteínas de baixo custo e boa qualidade. No mercado mundial de oleaginosas representa cerca de 36% do valor total gerado pelo comércio dos produtos agropecuários. A demanda por oleaginosas é determinada basicamente pela procura por produtos processados. Há uma maior relevância dos óleos vegetais, em relação aos grãos, em termos de valor agregado pela importância no mercado mundial. Segundo o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, em 2004 a produção de óleos vegetais foi da ordem de 100 milhões de toneladas. Os óleos vegetais mais consumidos são: soja, palma, colza (canola), girassol, amendoim, algodão e coco. Além desses, vale destacar os óleos de milho, oliva, gergelim, arroz e uva. O Brasil ocupa a posição de maior produtor e consumidor da América Latina. A história dos óleos vegetais no Brasil foi marcada por épocas distintas, na fase pioneira dos anos 50 predominou o óleo de algodão. Óleo neutro com propriedades adequadas para industrialização, porém

apresentava a desvantagem devido à presença do gossipol, (composto tóxico que, ao se combinar com a lisina disponível, induz a redução nutricional da torta e da farinha. Por outro lado, o gossipol induz sinais clínicos graves no homem e nos animais monogástricos). No início da década de 60 predominou o uso do óleo de amendoim, óleo de aroma agradável, mas apresentava altos teores de aflatoxina. A partir de 1972 surgiu a cultura da soja inaugurando uma nova fase que iria marcar definitivamente a evolução do agronegócio em oleaginosas. Em 2004 o Brasil produziu cerca de 63 milhões de tonelada de soja. A maior parte é direcionada para a industrialização do óleo para uso doméstico (FAÇABIODIESEL; acessado em 25 de outubro de 2007.)

Além da importância alimentícia, devemos ressaltar que a crescente preocupação em relação ao meio ambiente e a rápida diminuição das reservas de combustíveis fósseis no mundo, além do aumento no preço do petróleo levou à exploração de óleos vegetais na produção de combustíveis alternativos. Algumas dificuldades surgiram devidas à viscosidade natural desses óleos e ao baixo poder de ignição desse material, entretanto, os óleos vegetais têm sido bastante aceitos e utilizados na produção do biodiesel (COSTA NETO et al., 2000).

A biomassa tem atraído muita atenção nestas últimas décadas, por se tratar de uma fonte de energia renovável e por seu uso sustentado não provocar danos ao meio ambiente (BRASIL. Ministério da Ciência e Tecnologia, 2002). Dentre as fontes de biomassa considerados adequadas e disponíveis para a consolidação de programas de energia renovável, os óleos vegetais têm sido priorizados por representarem alternativa para a geração descentralizada de energia, atuando como forte apoio à agricultura familiar, criando melhores condições econômicas, em regiões com baixo IDH.

Os óleos e gorduras comestíveis são constituídos basicamente por diferentes tipos de ácidos graxos que se encontram esterificados com o glicerol formando os triacilgliceróis. As propriedades físicas e químicas das matérias graxas são determinadas pela natureza dos ácidos graxos que as constituem. A proporção de grupos acila saturados e insaturados presentes nos triglicerídeos é o que diferencia os óleos (líquidos) das gorduras (sólidas). Triacilglicerídeos constituídos predominantemente por ácidos graxos saturados com número de átomos de carbonos maior ou igual a 10, são sólidos. Os óleos, líquidos a temperatura ambiente, são constituídos em maior proporção por triglicerídeos formados em maior

quantidade por ácidos graxos insaturados. Cerca de 90% dos óleos vegetais produzidos no mundo são formados por trigliceróis de ácidos graxos de cadeia longa, que varia de 16 a 20 átomos de carbono, tendo como principais constituintes os ácidos palmítico, esteárico, oléico e linoléico.

De uma forma geral, pode-se afirmar que monoalquil-éster de ácidos graxos podem ser produzidos a partir de qualquer tipo de óleo vegetal, mas nem todo óleo vegetal pode ser utilizado como matéria-prima para a produção de biodiesel. Isto por que alguns óleos vegetais apresentam propriedades não ideais, como alta viscosidade ou alto número de iodo, que são transferidos para o biocombustível e que o tornam inadequado para o uso direto em motor de ciclo diesel (MARQUES et al., 2008).

Dentre as oleaginosas já investigadas para a produção de biodiesel, figuram a soja, o girassol, a mamona, o milho, a canola, o babaçu, o buriti, o dendê, o amendoim, entre outras (MELO et al., 2008; RAMOS et al., 2003). Gorduras animais e óleos usados para cocção de alimentos também são utilizados como matérias-primas alternativas (MA e HANNA 1999). No entanto, é importante ressaltar que as propriedades físicas e químicas da matéria-prima empregada no processo estão diretamente associadas ao rendimento da transesterificação e, por conseguinte, à qualidade do produto final para fins combustíveis (LANG et al., 2001; BARNWAL e SHARMA, 2005).

Estima-se que de 70 a 95% do custo de produção do biodiesel resultem de suas matérias-primas (MARQUES et al., 2008). Neste sentido, a utilização de óleo vegetal usado em frituras pode ser uma alternativa de redução de custos. Porém, como é de se esperar, suas propriedades são diferentes daqueles dos óleos puros. Pode-se indicar a maior concentração de ácidos graxos livres, prejudicial no caso da catálise alcalina, além da viscosidade cinemática, calor específico, etc.

Gorduras de origem animal também podem ser utilizadas como matéria-prima para a produção do biodiesel. Neste caso, o alto teor de ácidos graxos saturados determina o aumento do ponto de névoa e do ponto de entupimento de filtro a frio, propriedades indesejadas. Por outro lado, o biodiesel obtido de gorduras apresenta maiores número de cetano e poder calorífico (LEBEDEVAS et al., 2006).

De acordo com pesquisadores da Embrapa, existem centenas de espécies de frutos que podem ser usados para produzir o biocombustível, graças à grande biodiversidade da flora brasileira, em especial de palmáceas. Dentro do Plano

Estratégico da Embrapa para fontes alternativas de matérias-primas para o biodiesel, são indicadas onze espécies: tucumã, macaúba, pequi, pinhão-manso, baru, murumuru, buriti, inajá, andiroba, tucum e babaçu. A lista pode ser ampliada por espécies em análise como o tungue, o nabo forrageiro, o crambe, o sésamo e a linhaça. Todos foram selecionados porque tem potencial para produzir mais de uma tonelada de óleo por hectare (SQUIZATO, 2008).

1.3 Óleos de abacate

O abacate é um fruto que apresenta composição química muito variável. Estudos realizados com algumas variedades cultivadas no Estado de São Paulo mostraram grande variação quanto aos teores de lipídeos na polpa dos frutos (5,3 a 31,1% m/m), (TANGO et al., 1972).

O óleo de abacate é extraído quando os frutos estão maduros, isto é, com consistência mole, que é quando apresentam teores mais elevados de óleo. O principal obstáculo para obtenção do óleo é o alto teor de umidade que afeta o rendimento da extração. A qualidade do óleo interfere no custo de produção. O teor de óleo difere segundo as condições climáticas e do solo (MONTANO et al., 1960).

O óleo de abacate assemelha-se muito com o óleo de oliva por ser extraído da polpa dos frutos e pela similaridade de suas propriedades físico-químicas, principalmente pela composição de seus ácidos graxos, predominando em ambos o ácido oléico. Esses óleos são ricos em ácidos graxos ômega nove que parecem apresentar efeitos benéficos para a saúde do consumidor com relação à prevenção de doenças cardiovasculares (LÁSZLÓ, 2006).

Frutos que apresentam altos teores de lipídeos na polpa poderão constituir-se em uma matéria-prima importante para obtenção de óleo. Considerando-se a quantidade de óleo de abacate que pode ser obtida por unidade de área cultivada, a qual, de acordo com estudos comparativos realizados com algodão, amendoim e soja, é bem mais elevada do que de qualquer dessas sementes oleaginosas cultivadas (CANTO et al., 1980), o abacate apresenta-se como uma oleaginosa promissora para a produção de biodiesel.

1.3.1 Características Sensoriais

Os óleos e gorduras quanto a aparência devem se apresentar límpidos, estarem isentos de partículas em suspensão ou depósito. Não devem apresentar odor e sabor estranhos ou componentes indicativos de alteração do produto ou de emprego de tecnologia de fabricação inadequada. A cor deve ser própria conforme a espécie que deu origem (CODEX ALIMENTARIUS FAO/WHO, 2005).



Figura 1: Foto do óleo de abacate extraído de diversas amostras do fruto adquirido em mercados da cidade de Bauru/SP.

1.3.2 Composição do óleo de abacate

A composição em massa do abacate pode ser descrita simplificadaamente como: 5 a 24% de óleo, 70 a 85% de umidade e 7 a 10% de fibras.

Em comparação com outras fontes de óleos vegetais, o óleo de abacate caracteriza-se por apresentar teores elevados de ácidos graxos monoinsaturados (oléico e palmitoléico), baixo teor de ácido graxo polinsaturado (linoléico), teor relativamente elevado do ácido graxo saturado palmítico e menor conteúdo do ácido esteárico (saturado). As porcentagens de óleos variam entre as espécies de abacate, sendo que para o ácido oléico é 53,4%, para o ácido palmítico 24,2%, para o ácido linoléico 13,2%, para o ácido palmitoléico 7,8% e para o ácido esteárico 0,4% (TANGO, et al., 2004).

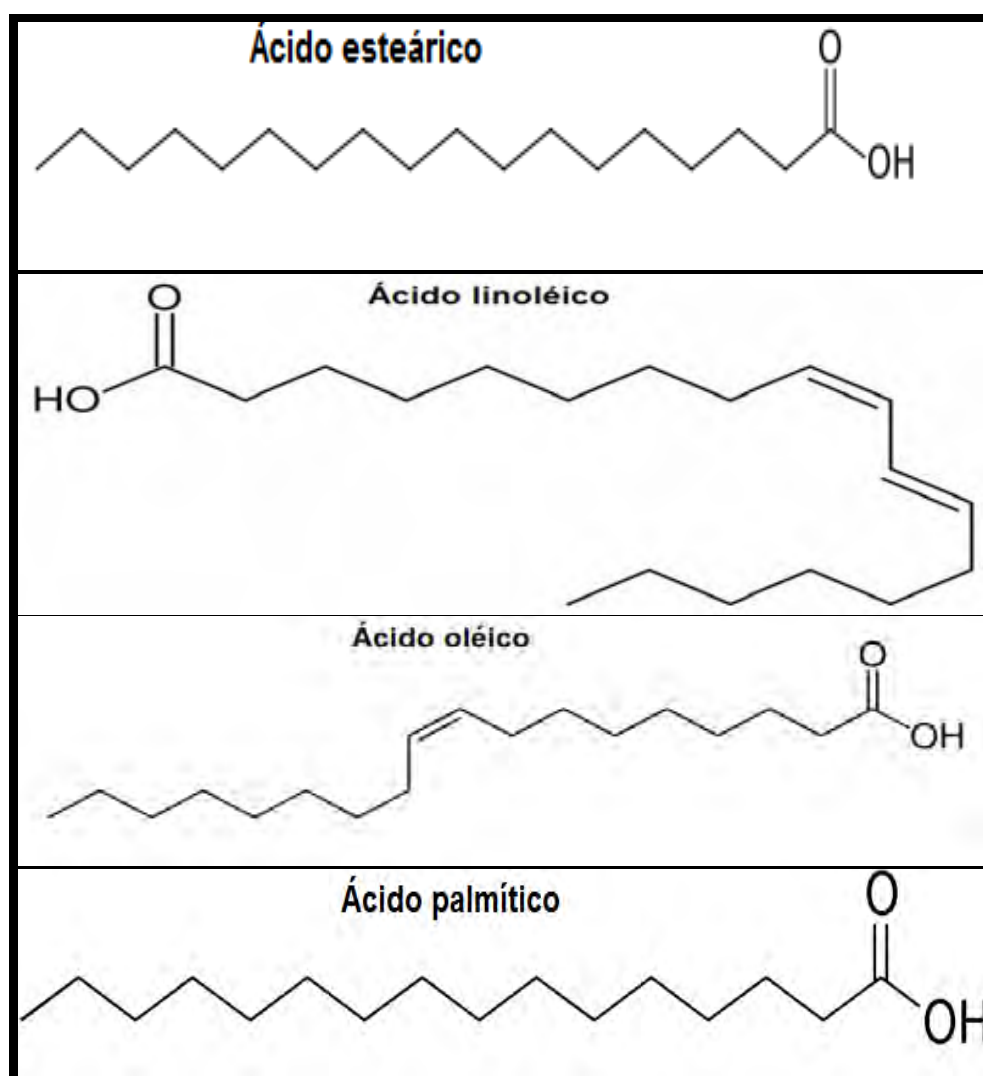


Figura 2: Fórmula estrutural dos ácidos esteárico, linoléico, oléico e palmítico

Apesar da enorme disponibilidade do fruto no país, o Brasil importa o óleo de abacate, pois não possui uma tecnologia adequada para o processamento, além da

grande diversidade da matéria-prima cujo teor de óleo varia significativamente. O uso do óleo de abacate é uma área de estudo pouco explorada devido principalmente ao elevado preço da matéria-prima (SILVA, 2008).

Diante deste quadro, deve ser dada uma atenção especial a novos estudos a fim de propor métodos de extração mais eficazes e com menor custo para um melhor aproveitamento desta grande disponibilidade do abacate no Brasil, uma vez que este fruto apresenta altos teores de lipídios.

1.4 Considerações sobre os métodos para extração de óleo de abacate

Diversos processos extrativos do óleo da polpa têm sido estudados, tais como: extração por centrifugação da polpa úmida; extração do óleo por solvente utilizando polpa liofilizada, polpa seca a 70°C ou com prévia fermentação anaeróbica; extração por prensagem hidráulica contínua ou descontínua, com adição de material auxiliar de prensagem; por tratamento da polpa fresca com produtos químicos ou por processos enzimáticos ou, mesmo, por processos convencionais de extração de óleo para sementes oleaginosas. Os rendimentos desses processos variam de 56 a 95% de óleo extraído (JIMENEZ, 1954; MONTANO et al., 1962; JAUBERT, 1970; SADIR, 1972; CANTO et al., 1980; TURATTI et al., 1985; TANGO e TURATTI, 1992; BIZIMANA et al., 1993).

Werman e Neeman desenvolveram uma técnica na Nova Zelândia, onde consiste em macerar a polpa do abacate congelado seguido pela prensagem e adição de água. Após este processo, o óleo, a água e os sólidos são separados por decantadores centrifugos, seguido pela centrifugação para efetivamente separar a água do óleo (WERMAN e NEEMAN 1987).

Em 2001, Jiménez e colaboradores efetuaram a extração do óleo de abacate empregando éter e hexano como solventes, após a secagem da polpa empregando um forno de microondas e um forno elétrico. Observou-se que em ambos os procedimentos, os rendimentos de extração foram maiores que 80%, e não foi observada alteração nas características físico-químicas do óleo extraído (JIMÉNEZ et al., 2001).

Moreno e colaboradores avaliaram em 2003, diferentes métodos de extração de ácidos graxos e compostos voláteis em abacate da espécie avocado (*Persea*

americana Mill). Um dos métodos consistiu em desidratar a amostra por microondas e em seguida esta foi prensada. Uma segunda amostra também foi desidratada por microondas, e submetida a extração com hexano. Duas amostras da polpa do avocado *in natura* foram submetidos a extração com hexano e acetona. Os autores concluíram que as quatro metodologias são adequadas para a extração de óleo do avocado, porém observou uma variação na composição química dos óleos obtidos nos diferentes métodos de extração empregados. O método em que desidratou a polpa seguida pela extração com hexano, apresentou um grande número de compostos orgânicos originados da polpa do avocado (MORENO et al., 2003).

Em 2007, Rojas também avaliou uma amostra de 420 g da polpa de avocado (*Persea americana Mill.*), o qual submeteu a hidrólise enzimática por duas horas a 40 °C, empregando as enzimas Pectinex Ultra SP-L e Olivex (1:1 v/v), seguido pela prensagem hidráulica, cuja a pressão aplicada foi de 100 Kg. A autora relatou que após a centrifugação, obteve um rendimento de 80% de óleo puro (ROJAS, 2007).

Montano e colaboradores utilizaram etanol como solvente na extração do óleo de abacate, e constatou que este provoca a desidratação do tecido alvear, facilitando a extração e eliminando-se, assim, a necessidade de um pré-aquecimento, secagem e moagem do material (MONTANO, 1962).

Jauber relata um processo de extração onde é adicionado junto a polpa um auxiliar de prensagem, e após a amostra ser prensada, o líquido (água + óleo) obtido é centrifugado para retirada do óleo (JAUBER, 1970).

No trabalho realizado por Sadir, a extração de óleo de abacate é feita por fermentação anaeróbica natural a 40°C, e sucessivo tratamento com etanol, e obteve-se um rendimento de extração de 90-95% do óleo contido no abacate (SADIR, 1972).

Estudos podem ser realizados para otimização dos processos com relação a custo e tempo gasto por extração, tendo em vista que os processos extrativos citados anteriormente são demorados e despendem alto custo.

2 OBJETIVOS DO TRABALHO

Com o desenvolvimento deste trabalho pretendeu-se atingir os seguintes objetivos:

- Otimizar técnicas de extração de óleo da polpa de abacate, buscando alto rendimento, baixo custo e diminuição no tempo de extração e geração de resíduos, baseando-se na redução da umidade da polpa e a otimização do contato do solvente com o óleo presente na amostra.
- Comparar resultados da otimização das técnicas de extração de óleo da polpa de abacate com o método recomendado pela AOAC.
- Otimizar a metodologia para a determinação de ácidos graxos desenvolvida por Hartman e Lago.
- Avaliar níveis de ácidos graxos palmítico, oléico, linoléico e esteárico em amostras de polpa de abacate por cromatografia gasosa.

3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAIS

3.1 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1.1 Reagentes

O hexano, heptano e o etanol (grau CLAE) foram adquiridos junto a Mallinckrodt (Mallinckrodt Pharmaceuticals, USA). Os ácidos , clorídrico, sulfúrico, fosfórico, fosfato ácido de sódio (p.a) e hidróxido de sódio, foram adquiridos junto a Merck (Merck-E, Merck RgaA, Germany). Os padrões de estearato, linoleato, palmitato e oleato de etila foram adquiridos junto a Sigma-Aldrich, (Sigma-Aldrich Chemical Company, USA). A enzima celulase foi adquirida junto a LNF-Latino americana,(Bento Gonçalves, RS).

3.1.1.1 Preparação das soluções padrão estoque de ésteres de ácidos graxos

As soluções padrões foram preparadas, dissolvendo-se quantidade conhecidas de linoleato, palmitato e oleato de etila, em heptano, obtendo concentrações que variaram de 0,46 à 2000 mg L⁻¹.

3.1.1.2 Preparação da polpa de abacate

Os abacates utilizados neste estudo foram adquiridos junto aos supermercados da cidade de Bauru. Para a extração do óleo foi utilizado o abacate no seu ponto de maturação, pois segundo Montenegro o teor de óleo na polpa de abacate aumenta progressivamente desde o início da formação do fruto até a sua maturação. (MONTENEGRO, 1960).

É importante ressaltar que foram efetuados os estudos, não levando em consideração as variedades de abacate. Foi retirada cuidadosamente a polpa do

abacate, e esta foi submetida a um liquidificador industrial para a homogeneização da amostra. Este procedimento foi repetido toda vez que se adquiriu um novo fruto, objetivando preparar a polpa de abacate para efetuar os ensaios de extração de óleo no momento do seu uso. A polpa foi mantida sob refrigeração até o momento da extração.

3.1.2 Métodos

Com o objetivo de efetuar a avaliação da extração de óleo da polpa de abacate, foram propostos diferentes métodos.

3.1.2.1 Extração do óleo da polpa de abacate com aparelho Soxhlet empregando etanol, metanol, hexano, e misturas entre eles

Aproximadamente 2g da polpa de abacate homogeneizada foi transferida para um cartucho do aparelho Soxhlet, e submetida ao refluxo por 6 horas empregando o etanol como solvente. O mesmo procedimento foi efetuado, empregando os solventes metanol, hexano, e misturas 1:1 (v/v) de etanol:metanol, etanol:hexano e metanol:hexano, para avaliar o rendimento da extração. Este processo de extração foi realizado conforme o fluxograma da Figura 3.

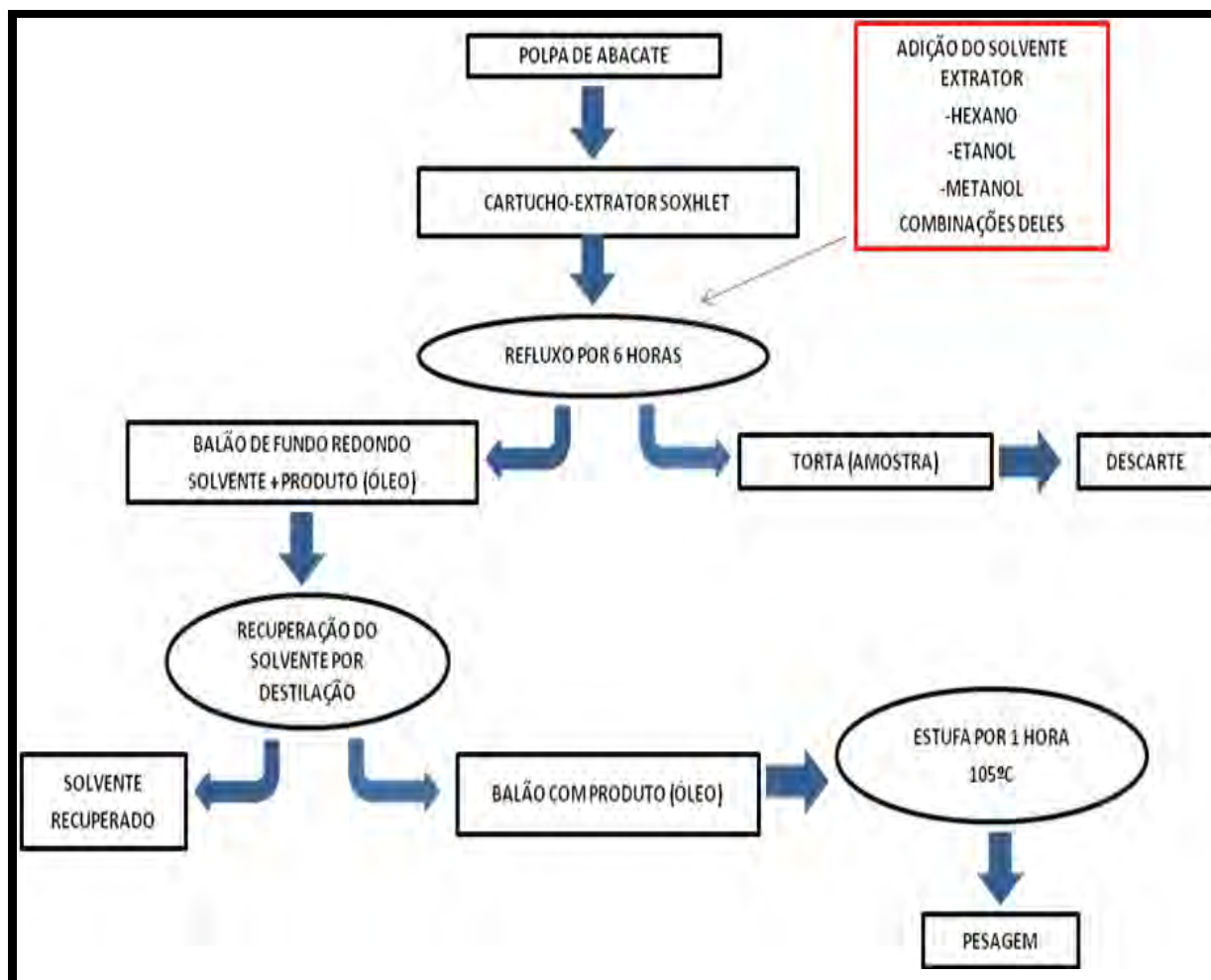


Figura 3: Fluxograma do procedimento de extração por aparelho Soxhlet empregando hexano, etanol, metanol, e misturas entre eles.

3.1.2.2 Extração do óleo da polpa de abacate com aparelho Soxhlet, após a adição da enzima celulase

Aproximadamente 2g da polpa de abacate homogeneizada foi transferida para um reator enzimático, seguido pela adição de celulase e mantido sob temperatura de 40°C, pH de 5,5 e agitação mecânica por 60 minutos. Após a filtração, o resíduo foi transferido para o aparelho Soxhlet e procedeu-se a extração como no item 3.1.2.1. O sobrenadante foi empregado para efetuar a extração líquido-líquido com hexano. O óleo extraído foi somado ao teor de óleo obtido na extração empregando o aparelho Soxhlet. Este processo de extração foi desenvolvido conforme o fluxograma da Figura 4.

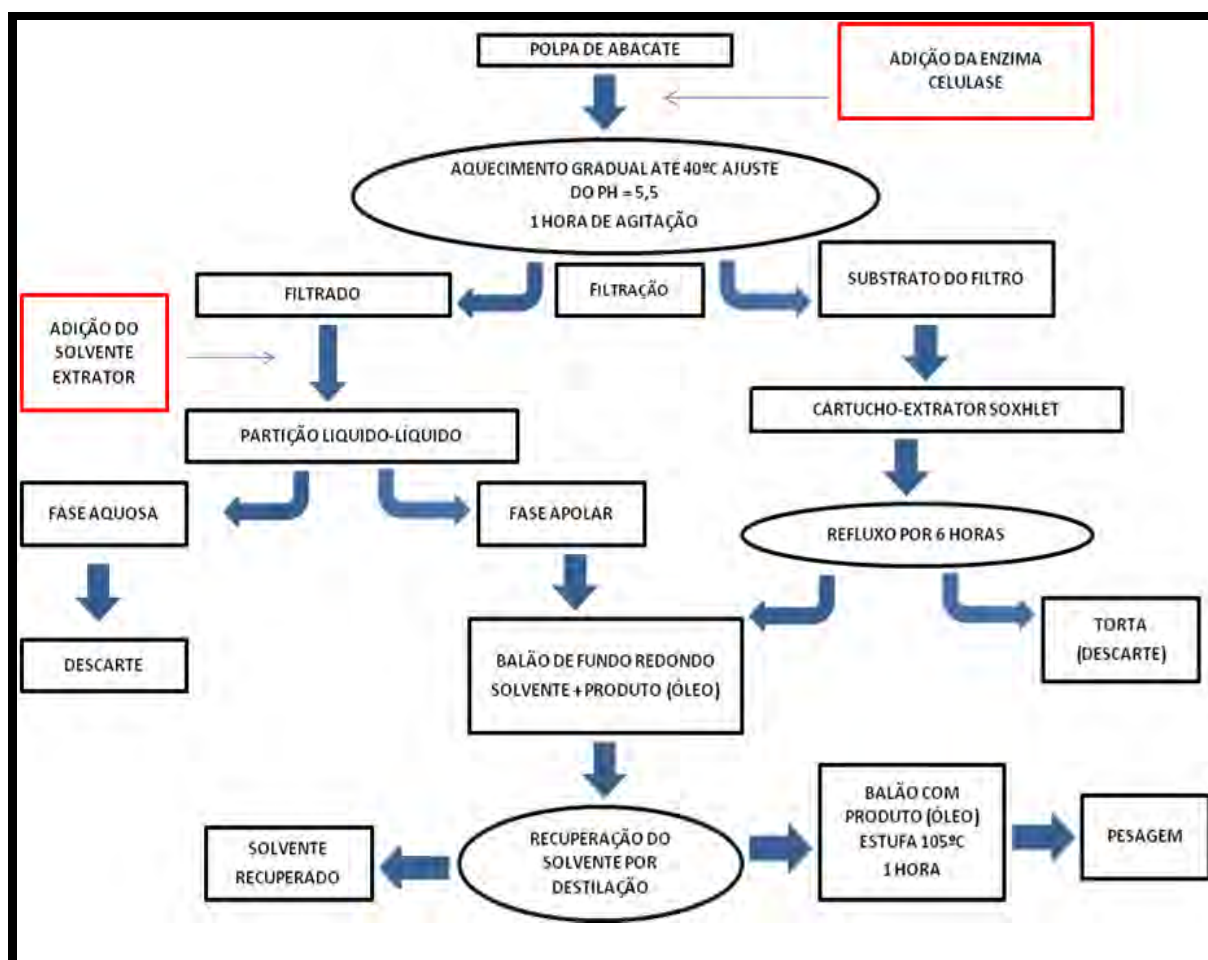


Figura 4: Fluxograma do procedimento de extração, com adição prévia da enzima celulase.

3.1.2.3 Extração do óleo da polpa de abacate com aparelho Soxhlet a partir da amostra seca

Aproximadamente 2g da polpa de abacate homogeneizada foi submetida à 105°C por uma hora em estufa. Em seguida pesou-se amostra. Este processo foi repetido até que se obteve massa constante. Posteriormente procedeu-se a extração como no item 3.1.2.1, utilizando o solvente que apresentou melhor rendimento neste processo.

3.1.2.4 Extração do óleo da polpa de abacate com aparelho Soxhlet após redução da umidade em forno de microondas

Aproximadamente 2g da polpa de abacate homogeneizada foi aquecida em microondas por 2 min em potência média, e em seguida procedeu-se a extração

conforme descrito em 3.1.2.1, utilizando o solvente que apresentou o melhor rendimento.

3.1.2.5 Extração do óleo da polpa de abacate por maceração com fricção após redução de umidade em forno microondas

Aproximadamente 2g da polpa de abacate homogeneizada, foi submetida à redução de umidade em forno microondas por 2 min em potência média, e em seguida foi efetuada uma extração por maceração com fricção seguida de filtração simples utilizando o solvente que apresentou melhor rendimento. O processo de macerar e filtrar foram realizados dez vezes por amostra, objetivando extrair todo óleo da amostra. Este processo de extração foi realizado conforme o fluxograma da Figura 5.

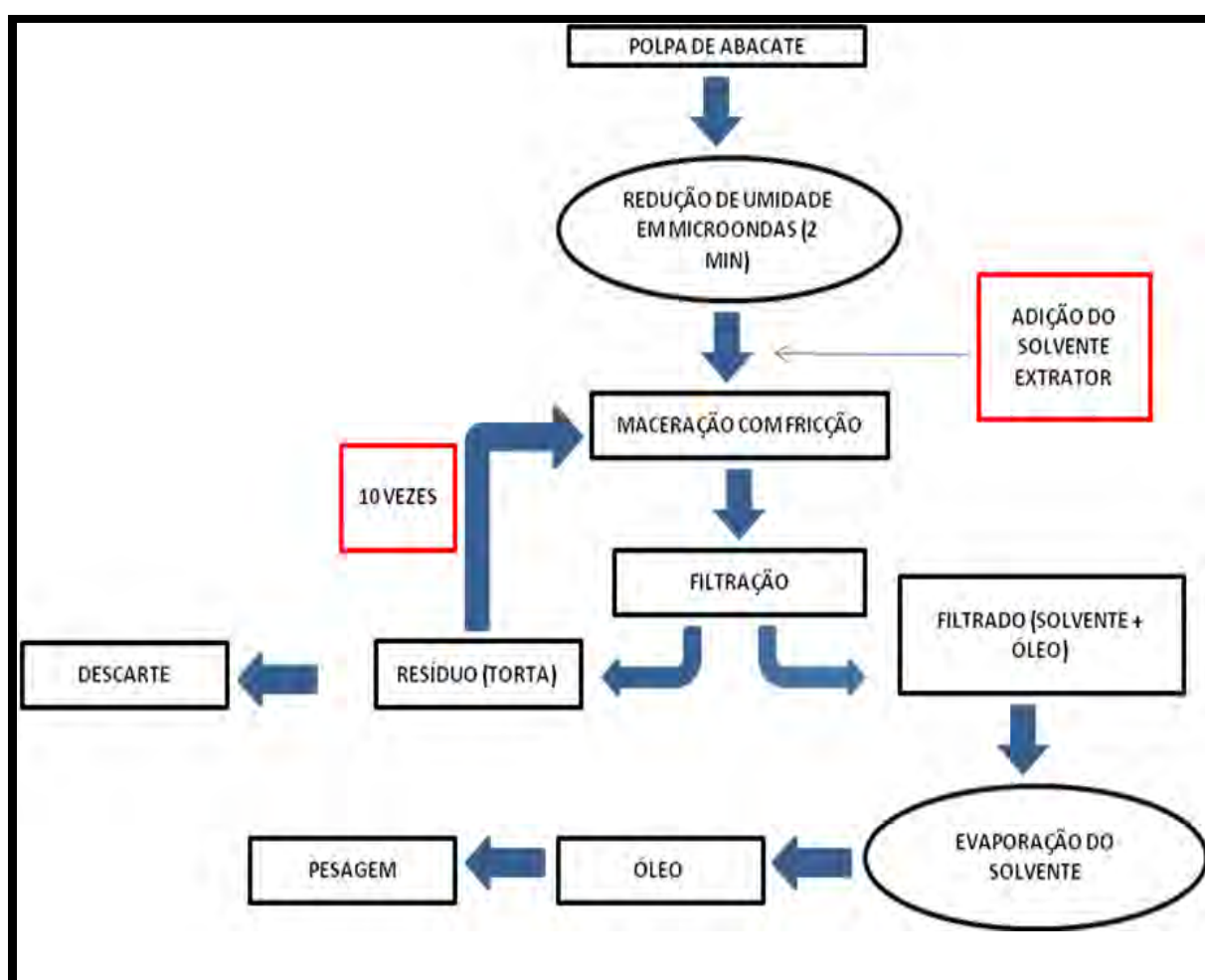


Figura 5: Fluxograma do procedimento de extração por maceração com fricção após redução de umidade em forno microondas.

3.1.2.6 Extração do óleo da polpa de abacate por tratamento em banho de ultra-som após redução da umidade em forno microondas

Aproximadamente 2g da polpa de abacate homogeneizada foi aquecida em microondas por 2 min em potência média, e em seguida foi adicionado 30mL do solvente que apresentou melhor rendimento, e submeteu-se em banho de ultra-som variando o tempo de exposição de 2 à 20min. Após o banho, foi realizada uma filtração simples, onde o resíduo foi descartado e o solvente foi recuperado por destilação, restando apenas o óleo extraído. Este processo de extração foi realizado conforme o fluxograma da Figura 6.

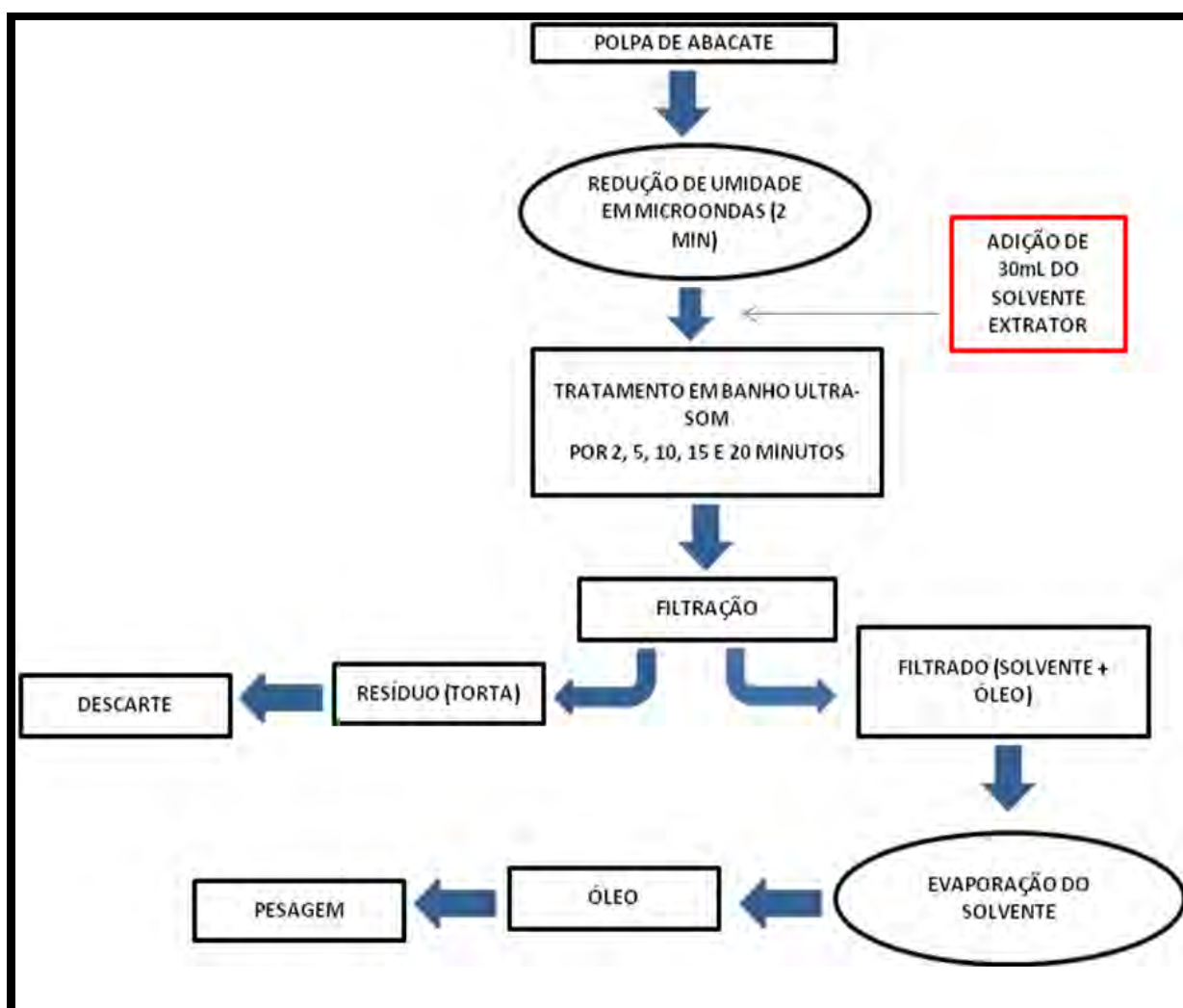


Figura 6: Fluxograma do procedimento de extração por tratamento em banho de ultra-som após redução da umidade em forno microondas.

3.1.2.7 Extração do óleo da polpa de abacate por tratamento em banho de ultra-som seguida de maceração após redução da umidade em forno microondas utilizando duas variáveis: solvente extrator (apolar) e massa da amostra

Aproximadamente 2, 4 e 6g da polpa de abacate homogeneizada foi aquecida em forno microondas por 2 min em potência média, e em seguida foi adicionado 30mL do solvente extrator, podendo este ser éter etílico, hexano ou éter de petróleo, e submeteu-se em banho de ultra-som por 15 minutos. Após o banho, foi realizada a extração por maceração com fricção conforme descrito no procedimento 3.1.2.5. Este processo de extração foi realizado conforme o fluxograma da Figura 7.

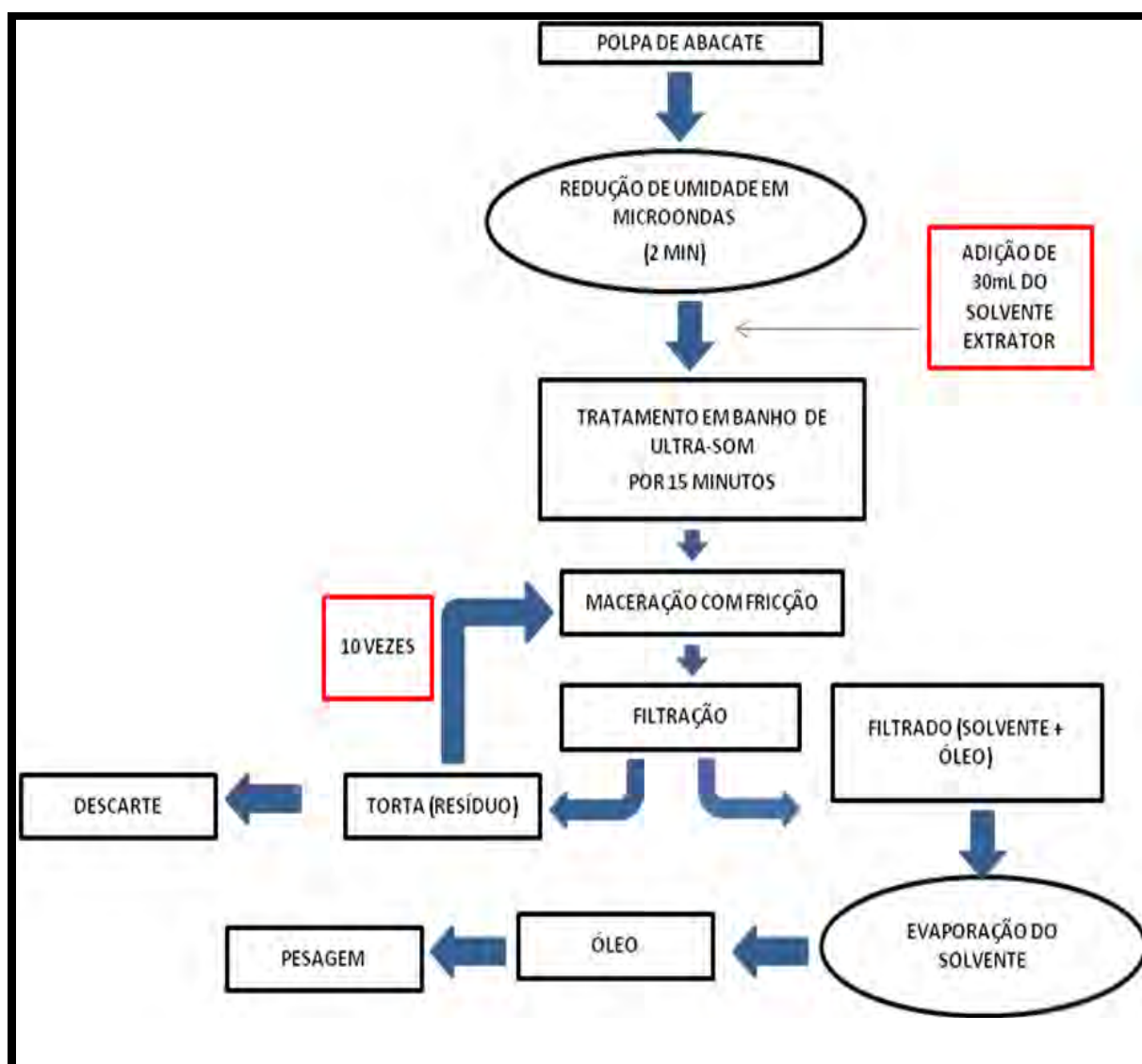


Figura 7: Fluxograma do procedimento de extração por tratamento em banho de ultra-som seguida de maceração com fricção após redução da umidade em forno microondas.

3.1.2.8 Determinação do teor de óleo presente na polpa de abacate

Para avaliar o rendimento das extrações determinou-se do teor de óleo presentes em amostras de polpa de abacate empregando o método gravimétrico utilizando aparelho Soxhlet, recomendado de acordo com Association of Analytical Chemists (AOAC, 1990). Os resultados obtidos serão apresentados e comparados frente aos apresentados pelas outras técnicas de extrações descritas neste trabalho.

3.1.2.9 Preparação da amostra de óleo de abacate para a determinação de ácidos graxos

Os ensaios de derivatização foram realizados de acordo com o método desenvolvido por Hartman e Lago (HARTMAN e LAGO, 1973). Quantidades conhecidas da amostra de óleo foram transferidas para um tubo de ensaio com tampa e a este foi transferido 0,5 mL de uma solução etanólica de NaOH 0,5 mol L⁻¹, e mantido em banho-maria a 95°C por 20 minutos. Após resfriamento em banho de gelo, foram adicionados 1,5 mL de uma solução etanólica, (previamente preparada com 3,0 mL de ácido sulfúrico e 2,0 g de cloreto de amônio, sob refluxo). Os tubos de ensaio retornaram em banho-maria a 95°C por 20 minutos. Após novo resfriamento, foram adicionados 10 mL de água destilada, seguido pela adição de 5,0 mL de n-heptano. Após agitação e repouso, foram transferidos 2,0 mL da fase apolar para um frasco de amostra do amostrador.

3.1.2.10 Condições cromatográficas para a otimização da separação dos ésteres de ácidos graxos, sintetizados a partir do óleo extraído da polpa de abacate

Para efetuar a otimização dos métodos analíticos para a determinação dos ésteres de ácidos graxos, foi empregado um sistema de cromatografia gasosa, equipado com *autosample*, detector de ionização de chama, e uma coluna ZB-5HT - (15m x 0,25mm x 0,25µm) com Guard Column de Sílica fundida (5m x 0,52mm) e injetor *on-column-PSSO*, modelo Clarus 600, adquirido junto a PerkinElmer, (Waltham, MA, USA).

A otimização cromatográfica empregada para efetuar a separação dos ésteres de ácidos graxos, sintetizados a partir do óleo extraído da polpa de abacate foi realizada de acordo com as condições cromatográficas apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Condições cromatográficas usada para a separação dos ésteres de ácidos graxos originados a partir do óleo de abacate.

	Parâmetros cromatográficos
Equipamento	Sistema GC/Headspace-Clarus 600, Perkin Elmer
Coluna capilar	ZB-5HT - (15m x 0,25mm x 0,25µm) com Guard Column de Sílica fundida (5m x 0,52mm)
Gás de arraste	Nitrogênio (1,0 mL min ⁻¹)
Modo de injeção	On-column - PSSO
Volume de injeção	1 µL
Detecção	Ionização de chama (FID)
Temperatura detector	300 °C
Temperatura injetor	Programável de acordo com a programação do forno
Temperatura inicial	160°C
Tempo inicial	1 min
Taxa de aquecimento	15°C/min/ até 250°C
Temperatura final	250°C/1 min
Tempo final	7 min

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Avaliação dos métodos de extração

Os métodos de extração propostos neste trabalho tem por finalidade comparar os resultados da extração realizada através do método proposto pela Association of Analytical Chemists (AOAC, 1990), que utiliza o aparelho Soxhlet mantendo a amostra em refluxo com o solvente extrator, fazendo a lixiviação da amostra com o solvente, a fim de obter um melhor rendimento, diminuir o custo do processo, reduzir o tempo de extração e geração de resíduos.

4.1.1 Avaliação da extração do óleo da polpa de abacate com aparelho Soxhlet empregando etanol, metanol, hexano, e misturas entre eles

Os resultados obtidos empregando a técnica de extração com aparelho Soxhlet, variando o solvente extrator estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2 – Avaliação da extração do óleo da polpa de abacate por aparelho Soxhlet empregando diferentes solventes.

Solvente Extrator	Massa da amostra (g)	Massa de óleo extraído (g)	Teor de óleo (%)	Média (%)	DPR
Hexano	2,198	0,081	3,68	3,72	0,23
	2,186	0,089	4,07		
	2,103	0,072	3,42		
Etanol	2,175	0,237	10,89	11,70	0,56
	2,192	0,284	12,95		
	2,217	0,250	11,27		
Metanol	2,076	0,198	9,53	11,66	1,50
	2,112	0,294	13,92		
	2,002	0,231	11,53		
Etanol:Hexano (1:1)(v/v)	1,998	0,207	10,36	10,22	1,56
	2,035	0,159	7,81		
	2,153	0,269	12,49		
Metanol:Hexano (1:1)(v/v)	2,251	0,266	11,81	10,75	0,71
	2,009	0,205	10,20		
	2,167	0,222	10,24		
Metanol:Etanol (1:1)(v/v)	2,173	0,312	14,35	13,55	0,53
	2,154	0,288	13,37		
	2,255	0,292	12,94		

As extrações realizadas com hexano, etanol e metanol e combinações entre eles, apresentaram um teor de óleo variando de uma média de 3,72% com hexano a 13,55% com a mistura metanol:etanol (1:1). O rendimento obtido quando utilizou-se solventes polares (etanol e metanol) pode ser considerado relativamente alto, porém, a utilização dos mesmos nas próximas etapas foi descartada, devido a ocorrência de extração de substâncias de mesma polaridade. A explicação deve-se ao fato de que ao aquecer o balão com o resíduo na estufa a 105°C, foi possível observar a oxidação do material extraído, fato que não ocorre com o óleo puro quando extraído com solvente apolar (hexano). Além disso, estes solventes polares interagem com a água presente na polpa do fruto o que não é favorável para o processo extrativo, uma vez que a água é um dos maiores problemas na extração de óleo em amostras vegetais.

4.1.2 Avaliação da extração de óleo da polpa de abacate previamente hidrolisada com enzima celulase por aparelho Soxhlet

A fim de aumentar o contato do solvente extrator com o óleo presente na polpa, realizou-se a extração do óleo com aparelho Soxhlet após a adição da enzima celulase conforme descrito no item 3.1.2.2. Os resultados desta extração estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3 – Avaliação da extração de óleo da polpa de abacate, previamente hidrolisada com enzima celulase por aparelho Soxhlet.

Extração por aparelho Soxhlet após a adição da enzima celulase					
Solvente	Massa da	Massa do óleo	Teor de óleo (%)	Média	DPR
Extrator	amostra	extraído		(%)	
	2,058	0,010	0,48		
Hexano	2,077	0,015	0,72	0,59	0,08
	2,055	0,012	0,58		
Extração por aparelho Soxhlet de acordo com a AOAC					
Solvente	Massa da	Massa de óleo	Teor de óleo (%)	Média	DPR
Extrator	amostra (g)	extraído (g)		(%)	
	2,198	0,081	3,68		
Hexano	2,186	0,089	4,07	3,72	0,23
	2,103	0,072	3,42		
RENDIMENTO: 15,9%					

O objetivo da adição da enzima celulase seria abrir a parede celular da polpa, facilitando assim a penetração e o contato do solvente extrator com o óleo presente na amostra. Analisando estes dados, podemos afirmar que a extração com adição prévia da enzima celulase, não apresentou bons resultados, uma vez que o rendimento de extração foi de somente 15,9% do rendimento do método remendado pela AOAC mesmo somando o teor de óleo obtido na extração líquido-líquido da fase aquosa. Pode-se atribuir esse resultado à homogeneização da polpa de abacate, momento no qual ocorre um entrelaçamento maior das fibras celulares dificultando a ação da enzima celulase. Além do baixo rendimento, se gasta muito

tempo com este processo extrativo e ainda gera-se uma grande quantidade de resíduo.

Diante do exposto, podemos afirmar que esta metodologia para extrair óleo de amostra de polpa de abacate se mostrou pouco favorável.

4.1.3 Avaliação da extração de óleo da polpa de abacate desidratada, empregando uma estufa de aquecimento

Considerando que a alta umidade da polpa de abacate não é um fator favorável para o processo extrativo, pois a água ocasiona um impedimento entre o contato do solvente extrator com o produto a ser extraído, a amostra foi submetida à desidratação em estufa e, posteriormente realizada a extração a partir da amostra seca, utilizando o hexano como solvente extrator. Os resultados estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4- Avaliação da extração de óleo da polpa de abacate por aparelho Soxhlet, após determinação da umidade.

Solvente Extrator	Massa da amostra Bruta (g)	Massa da amostra Seca (g)	Perda de Umidade (%)	Massa do óleo extraído (g)	Teor de óleo (%)	Média (%)	DPR
hexano	2,428	0,6005	75,26	0,088	3,11	4,24	0,61
	2,175	0,4019	81,52	0,107	4,91		
	2,014	0,4103	79,62	0,095	4,71		

A média do teor de óleo obtido na extração realizada na amostra bruta considerando o hexano como solvente extrator descrito na Tabela 2, foi de 3,72%. Já com a extração na amostra seca, obteve-se a média de teor de óleo de 4,24% (Tabela 4), o que resulta num rendimento de 0,52% a mais para a amostra isenta de água. O teor de umidade na polpa de abacate é consideravelmente alto, está entre 75,26 e 81,52%, o que certamente compromete o rendimento da extração, uma vez que a água é um composto polar e causa um impedimento entre a interação do solvente extrator (hexano) com o óleo presente na polpa.

No estudo realizado por Tango e colaboradores (2004) foi observada uma correlação linear negativa entre os teores de umidade e de lipídeos em amostras de

polpa de abacate. Quanto maior o teor de umidade na polpa de abacate, menor era o teor de lipídeos. A explicação deve-se ao fato de que a soma dos teores de umidade e lipídeos corresponde à grande parte da massa das polpas. (TANGO et al., 2004).

O elevado teor de umidade na polpa de abacate é a principal dificuldade para a obtenção de óleo, afetando diretamente o rendimento da extração e conseqüentemente encarece a produção em larga escala.

Importante salientar que as percentagens de umidade nos frutos de abacate diminuem com a maturação e, normalmente, são influenciadas pelas condições climáticas, sendo menores na época de inverno, cujo período tem menor intensidade de chuvas (BLEINROTH E CASTRO, 1992).

4.1.4 Avaliação da extração de óleo da polpa de abacate após redução de umidade empregando um forno microondas por aparelho Soxhlet

Para diminuir o tempo gasto com a desidratação da amostra na estufa, e considerando que a extração a partir da amostra seca apresentou um melhor rendimento, as amostras foram submetidas a uma redução de umidade empregando o forno microondas, em potência média, por dois minutos, seguido pela extração do óleo com aparelho Soxhlet. Nota-se que a amostra da polpa de abacate quando submetida a aquecimento por um tempo maior que dois minutos e em potencia maior, sofre oxidação, o que afetaria a efetiva extração do óleo. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Avaliação da extração do óleo da polpa de abacate por aparelho Soxhlet, com previa redução de umidade em forno microondas.

Extração por aparelho Soxhlet após redução de umidade em forno microondas					
Solvente	Massa da	Massa do óleo	Teor de óleo (%)	Média	DPR
Extrator	amostra	extraído			
	2,012	0,091	4,52		
Hexano	2,187	0,086	3,93	4,49	0,38
	2,064	0,104	5,03		
Extração por aparelho Soxhlet de acordo com a AOAC					
Solvente	Massa da	Massa de óleo	Teor de óleo (%)	Média	DPR
Extrator	amostra (g)	extraído (g)		(%)	
	2,198	0,081	3,68		
Hexano	2,186	0,089	4,07	3,72	0,23
	2,103	0,072	3,42		
RENDIMENTO: 20,7% a mais que o método AOAC					

O rendimento deste método foi satisfatório por apresentar um valor de 20,7% a mais que o método sugerido pela AOAC. O tempo de dois minutos para a redução da umidade da amostra é muito expressivo, quando comparado com o tempo necessário de 60 minutos para obter a eliminação da água, empregando uma estufa com temperatura ajustada em 105°C.

Além da redução da umidade ocasionada pelas microondas, o aquecimento local da água favorece um rompimento das organelas celulares, facilitando assim a penetração do solvente. Desta forma pode-se comparar as Tabelas 4 e 5, onde o teor médio de óleo obtido pela amostra seca em forno microondas foi ligeiramente superior (4,49%), em relação ao valor obtido pela amostra seca em estufa, (4,24%). Da mesma forma, em trabalho realizado por Moreno e colaboradores (2003), utilizando o forno de microondas para realizar um tratamento prévio das amostras de polpa de abacate seguido de extração por aparelho Soxhlet, com hexano como solvente extrator, obteve-se até 97% de rendimento na extração.

4.1.5 Avaliação da extração do óleo da polpa de abacate por maceração com fricção após redução da umidade em forno microondas

Os resultados desta extração realizada por maceração após desidratação em forno microondas estão na Tabela 6.

Tabela 6 – Avaliação da extração do óleo da polpa de abacate com previa redução de umidade em forno microondas seguido por maceração com fricção.

Extração por maceração com fricção após redução da umidade em forno microondas					
Solvente	Massa da	Massa do óleo	Teor de óleo (%)	Média	DPR
Extrator	amostra	extraído			
Hexano	2,242	0,114	5,08	5,02	0,05
	2,003	0,099	4,94		
	2,007	0,101	5,03		
Extração por aparelho Soxhlet de acordo com a AOAC					
Solvente	Massa da	Massa de óleo	Teor de óleo (%)	Média	DPR
Extrator	amostra (g)	extraído (g)		(%)	
Hexano	2,198	0,081	3,68	3,72	0,23
	2,186	0,089	4,07		
	2,103	0,072	3,42		
RENDIMENTO: 34,9% a mais que o método AOAC					

Esta técnica de extração apresentou um bom rendimento (34,9% a mais que o método AOAC) e com uma significativa diminuição no tempo de extração. Com apenas uma hora e trinta minutos, a nova metodologia apresentou bons resultados enquanto que a extração com aparelho Soxhlet segundo a AOAC exige um tempo de aproximadamente 6 horas. Outra vantagem observada foi na economia de solvente extrator, quando comparado com a técnica anterior. Na extração por aparelho Soxhlet convencional, tem-se um gasto médio de 350 a 400 mL de solvente, e esta técnica consumiu aproximadamente 100 mL do solvente extrator.

4.1.6 Avaliação da extração do óleo da polpa de abacate por tratamento em banho de ultra-som após redução da umidade em forno microondas

A avaliação do tempo de exposição em banho de ultra-som esta na Tabela 7.

Tabela 7 - Avaliação da extração de óleo da polpa de abacate com previa redução de umidade em microondas seguido por tratamento em banho de ultra-som.

Extração por tratamento em banho de ultra-som com hexano como solvente, após redução da umidade em forno microondas					
Tempo de permanência em banho ultra sônico (min)	Massa da amostra (g)	Massa de óleo extraído (g)	Teor de óleo (%)	Média (%)	DPR
2	2,350	0,122	5,19	4,12	0,71
	2,489	0,095	3,82		
	2,288	0,077	3,37		
5	2,312	0,062	2,68	4,34	1,10
	2,470	0,134	5,43		
	2,531	0,124	4,90		
10	2,807	0,169	6,02	4,56	0,97
	2,572	0,089	3,46		
	2,144	0,090	4,20		
15	2,736	0,110	4,02	4,65	0,69
	2,549	0,145	5,69		
	2,611	0,111	4,25		
20	2,303	0,135	5,86	4,64	0,81
	2,676	0,113	4,22		
	2,055	0,079	3,84		
Extração por aparelho Soxhlet de acordo com a AOAC					
Solvente Extrator	Massa da amostra (g)	Massa de óleo extraído (g)	Teor de óleo (%)	Média (%)	DPR
Hexano	2,198	0,066	3,01	3,41	1,21
	2,186	0,114	5,22		
	2,103	0,042	1,99		
RENDIMENTO: 36,4%(a mais que o método AOAC) - tempo 15 min					

Como pode ser observado na Tabela 7, foi avaliado o tempo de exposição em banho de ultra-som suficiente para extração do óleo e os respectivos rendimentos.

A extração por sonicação após desidratação em microondas, apresentou um rendimento de extração 36,4% superior ao obtido empregando a metodologia na AOAC, como pode ser observado na Tabela 7.

Constatou-se também que a máxima extração do óleo por esta metodologia ocorreu com o tempo de 15 minutos. Com 20 minutos de sonicação, observa-se uma média consideravelmente constante do teor de óleo extraído.

4.1.7 Avaliação da extração do óleo da polpa de abacate por tratamento em banho de ultra-som seguida de maceração com fricção após redução de umidade em forno microondas utilizando duas variáveis: solvente extrator (apolar) e massa da amostra

Observando as Tabelas 6 e 7, as técnicas de extração por maceração com fricção após redução de umidade em microondas e extração por tratamento em banho de ultra-som, apresentaram rendimentos de extração de 34,9 e 36,4%, superiores ao método AOAC, respectivamente.

Sendo assim, avaliou-se o rendimento da junção das duas técnicas de extração, tratamento em banho de ultra-som e posterior maceração com fricção da amostra com umidade reduzida em forno microondas, tendo duas variáveis: o solvente extrator, e a massa da amostra. Os resultados estão apresentados na Tabela 8 e Figura 8.

Tabela 8 - Avaliação da extração de óleo da polpa de abacate com previa redução da umidade por forno microondas, seguido por tratamento em banho de ultra-som e posterior maceração com fricção.

Extração por tratamento em banho de ultra-som(tempo de 15 minutos) e posterior maceração com fricção utilizando hexano como solvente, após previa redução da umidade em forno microondas

Solvente Extrator	Massa da amostra (g)	Massa de óleo extraído (g)	Teor de óleo (%)	Média (%)	DPR
Éter Etílico	2,075	0,181	8,74	8,82	0,07
	4,188	0,369	8,81		
	6,309	0,563	8,93		
Hexano	2,165	0,222	10,24	10,21	0,05
	4,265	0,437	10,26		
	6,074	0,615	10,13		
Éter de Petróleo	2,087	0,196	9,41	9,34	0,04
	4,174	0,389	9,32		
	6,265	0,582	9,29		

Extração por aparelho Soxhlet de acordo com a AOAC

Solvente	Massa da	Massa de óleo	Teor de óleo	Média	DPR
Extrator	amostra (g)	extraído (g)	(%)	(%)	
Hexano	2,231	0,139	6,23	6,98	0,70
	2,227	0,149	6,69		
	2,002	0,161	8,04		
RENDIMENTO: 46,3%(a mais que o método AOAC) - Solvente Hexano					

Analisando a Figura 8 e os dados da Tabela 8, podemos afirmar que o melhor solvente extrator dentre os avaliados é o hexano com teor de óleo de 10,21% e rendimento de 46,3% a mais que o método AOAC. A variação na massa da amostra não teve efeito considerável no rendimento da extração.

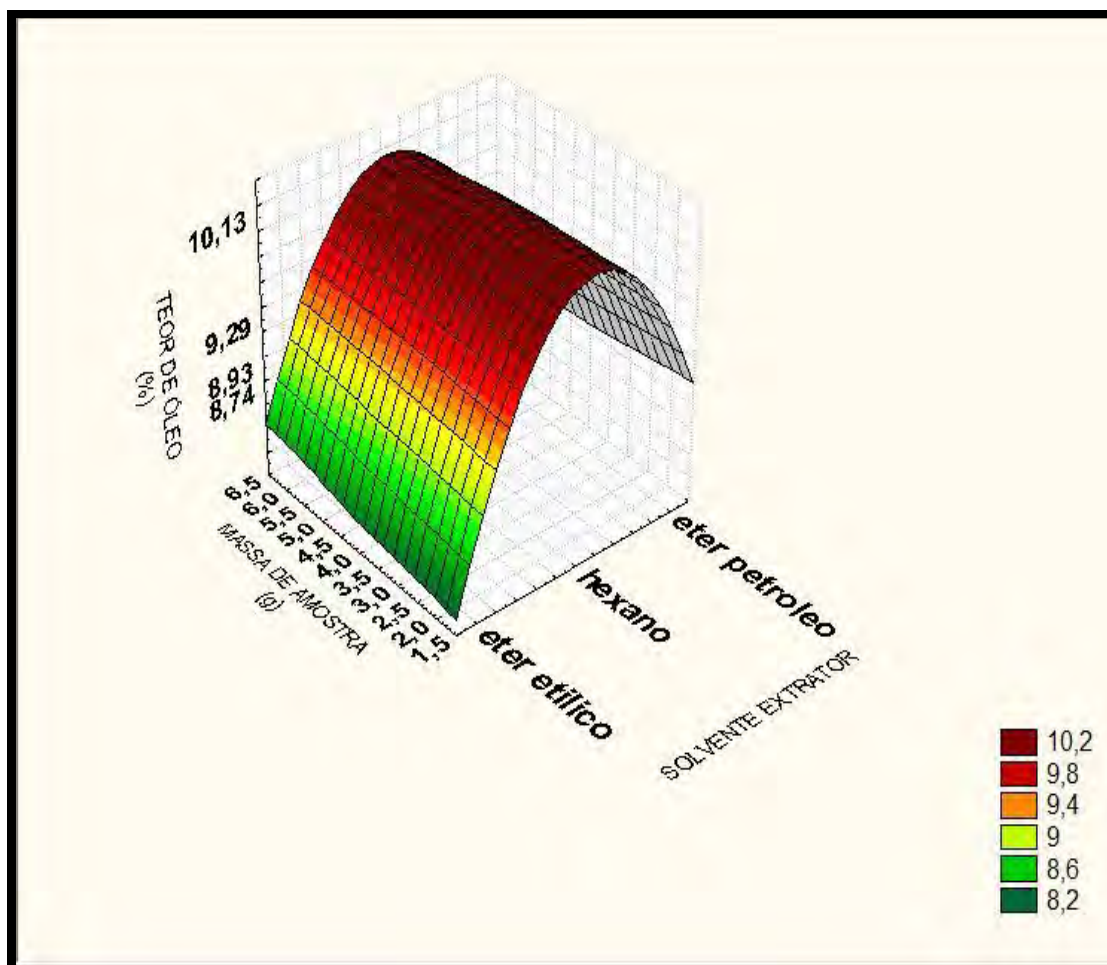


Figura 8: Gráfico obtido em função do solvente extrator, massa da amostra e teor de óleo.

Afim de comparar o melhor método de extração proposto por este trabalho com o método convencional de extração por Soxhlet AOAC (AOAC , 1990), foi avaliado o tempo gasto pela realização destas extrações. Os resultados estão descritos na Figura 9.

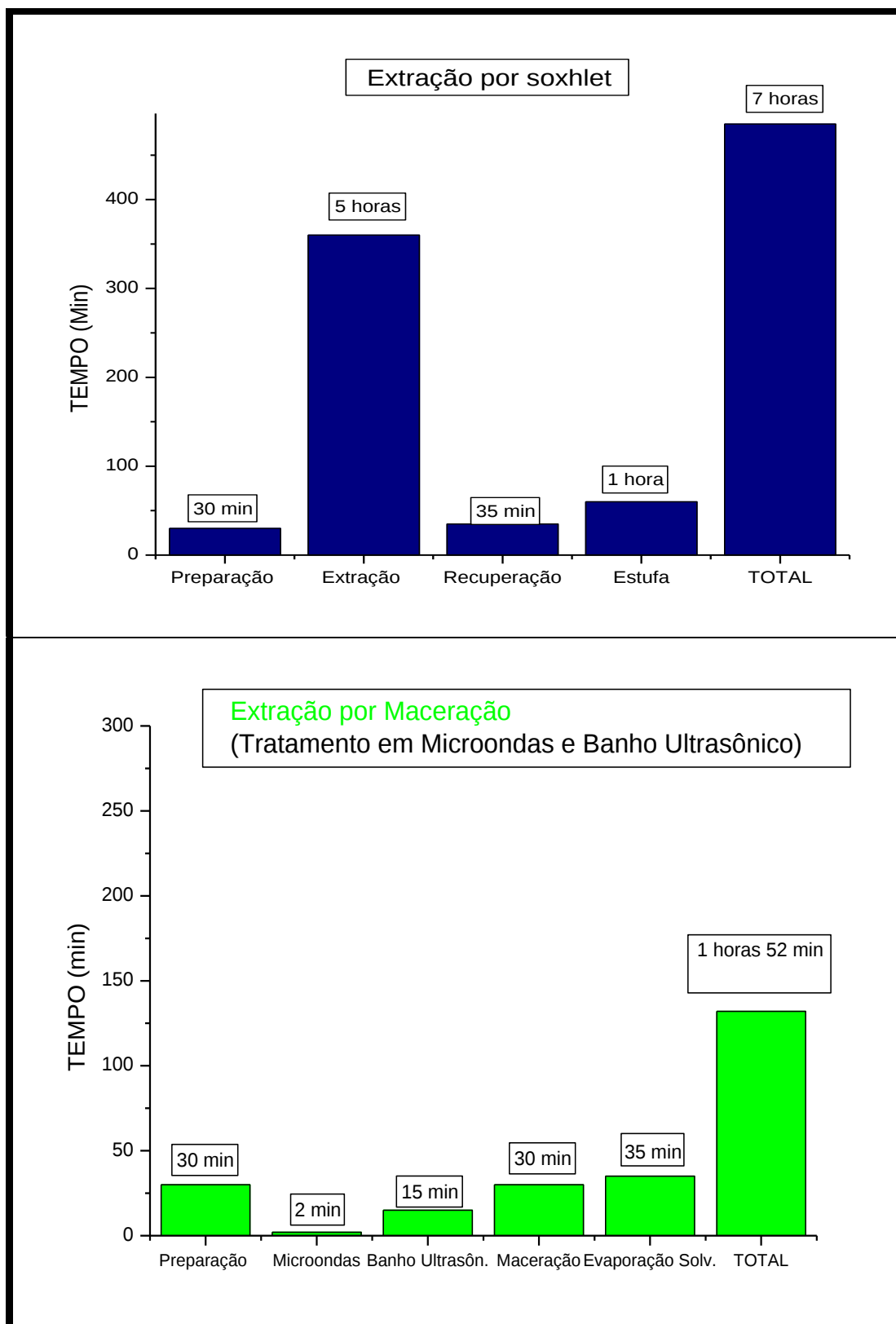


Figura 9 – Gráficos indicativos do tempo gasto na realização da extração de óleo de abacate.

O método de extração da amostra com previa redução da umidade em forno microondas, seguido por banho ultra-som e posterior maceração com fricção, utilizando hexano como solvente, além de apresentar um maior rendimento quando comparado com as outras técnicas descritas anteriormente, requer apenas 1 hora e 52 minutos proporcionando uma economia substancial de solventes e tempo de análise, quando comparado com o método de extração convencional por aparelho Soxhlet.

4.2 Otimização cromatográfica

Utilizando um sistema de cromatografia gasosa, cujas condições cromatográficas foram apresentadas na Tabela 1, inicialmente injetou as soluções-padrão de cada éster individualmente, objetivando determinar os respectivos tempos de retenção. A Figura 10, apresenta os picos cromatográficos obtidos após as injeções de um 1 μL das soluções-padrão dos ésteres preparada previamente, como descrita no item 3.1.1.1.

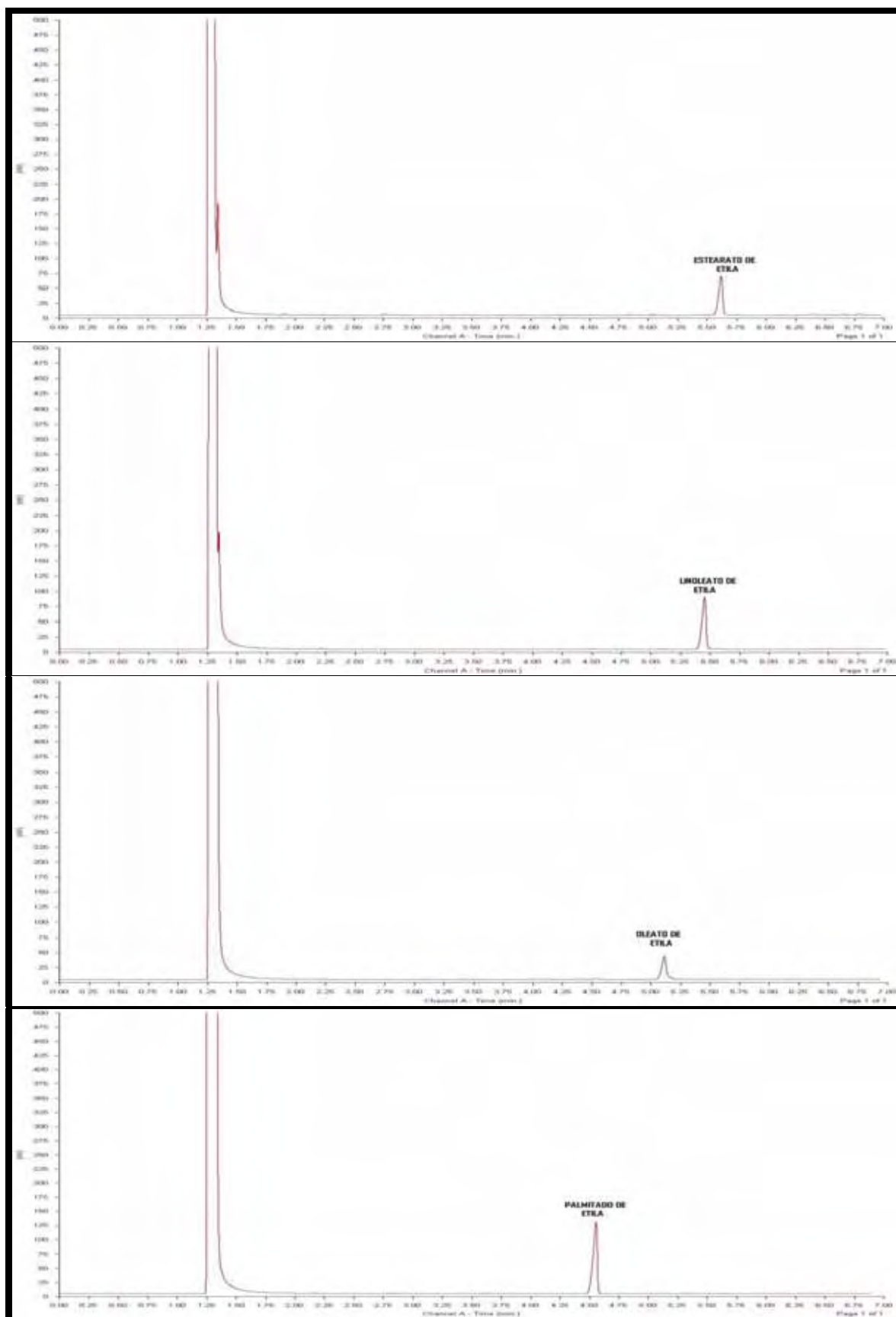


Figura 10 – Cromatogramas obtidos após a injeção de 1 μ L de cada solução padrão dos ésteres : estearato de etila, linoleato de etila, palmitato de etila e oleato de etila, com concentrações de 100mg/L.

Posteriormente, foi injetado 1µL de mistura de soluções-padrão contendo os ésteres dos ácidos graxos, esteárico, linoléico, palmítico e oléico, contendo 500 mg/L, obtendo o cromatograma apresentado na Figura 11.

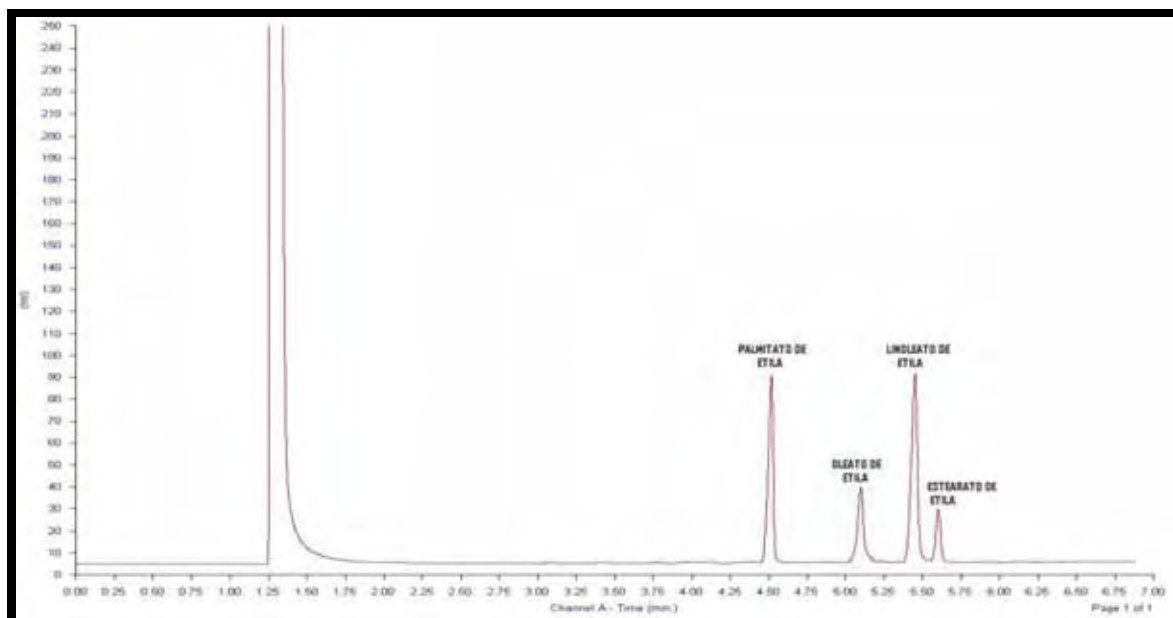


Figura 11 – Cromatograma obtido após a injeção de 1µL de uma mistura de soluções-padrão contendo 500 mg/L de estearato, linoleato, palmitato e oleato de etila.

Observando os picos obtidos na Figura 10 pode-se afirmar que o método utilizado é adequado para efetuar as separações dos referidos ésteres estudados.

4.2.1 Curvas analíticas para as soluções-padrão dos ésteres de ácido graxo: palmitato, oleato, linoleato e estearato de etila

Definida a melhor condição cromatográfica para a separação dos ésteres de ácidos graxos, avaliou-se o fator de resposta dos referidos ésteres empregando o detector FID, experimentando diferentes concentrações dos analitos de forma decrescente, até observar ausência de picos resolvidos. Para tanto, foram injetados concentrações dos ésteres variando de 15 a 2000mg/L. As Figuras 12, 13, 14 e 15 mostram as curvas analíticas obtidas para as soluções padrão dos referidos ésteres. Os resultados obtidos evidenciam linearidade satisfatória na determinação dos ésteres palmitato, oleato, linoleato e estearato de etila com o sistema de detecção utilizado para o intervalo de concentração avaliado. Pode-se inferir, analisando a equação da reta obtida, que o modelo linear para a determinação dos ésteres em

questão por CG com detector FID é adequado, já que os coeficientes de correlação (r) foram superiores a 0,99. Estes valores expressam a relação entre a área do pico cromatográfico (y) e a concentração dos ésteres de ácido graxo (x), os valores ideais esperados para r estariam entre -1 e 1, sendo que, quanto mais próximo da unidade, maior a relação entre a concentração e o sinal analítico obtido.

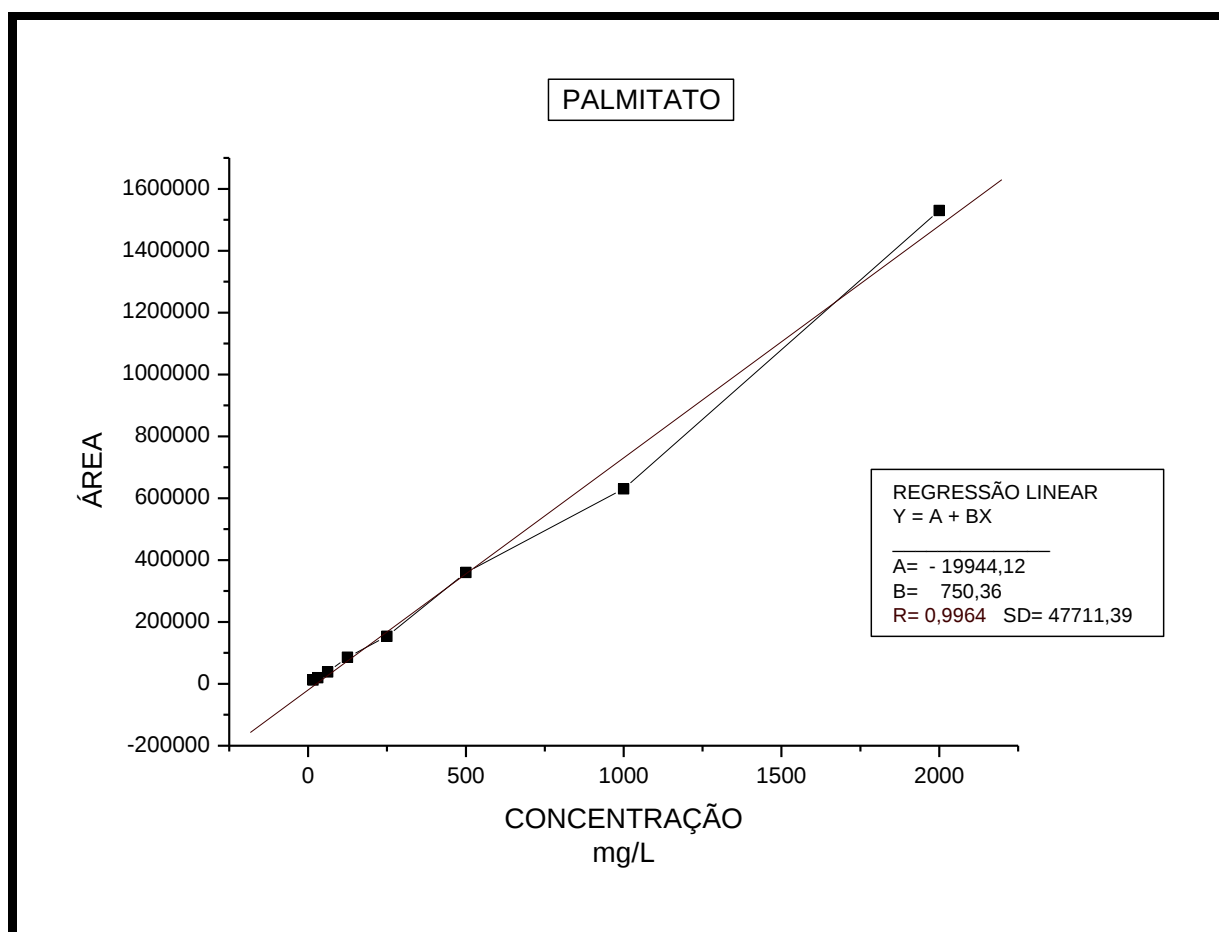


Figura 12 – Curva analítica do palmitato de etila após injeção de 1µL das soluções padrão no sistema de CG no intervalo de 15 a 2000mg/L nas condições cromatográficas otimizadas.

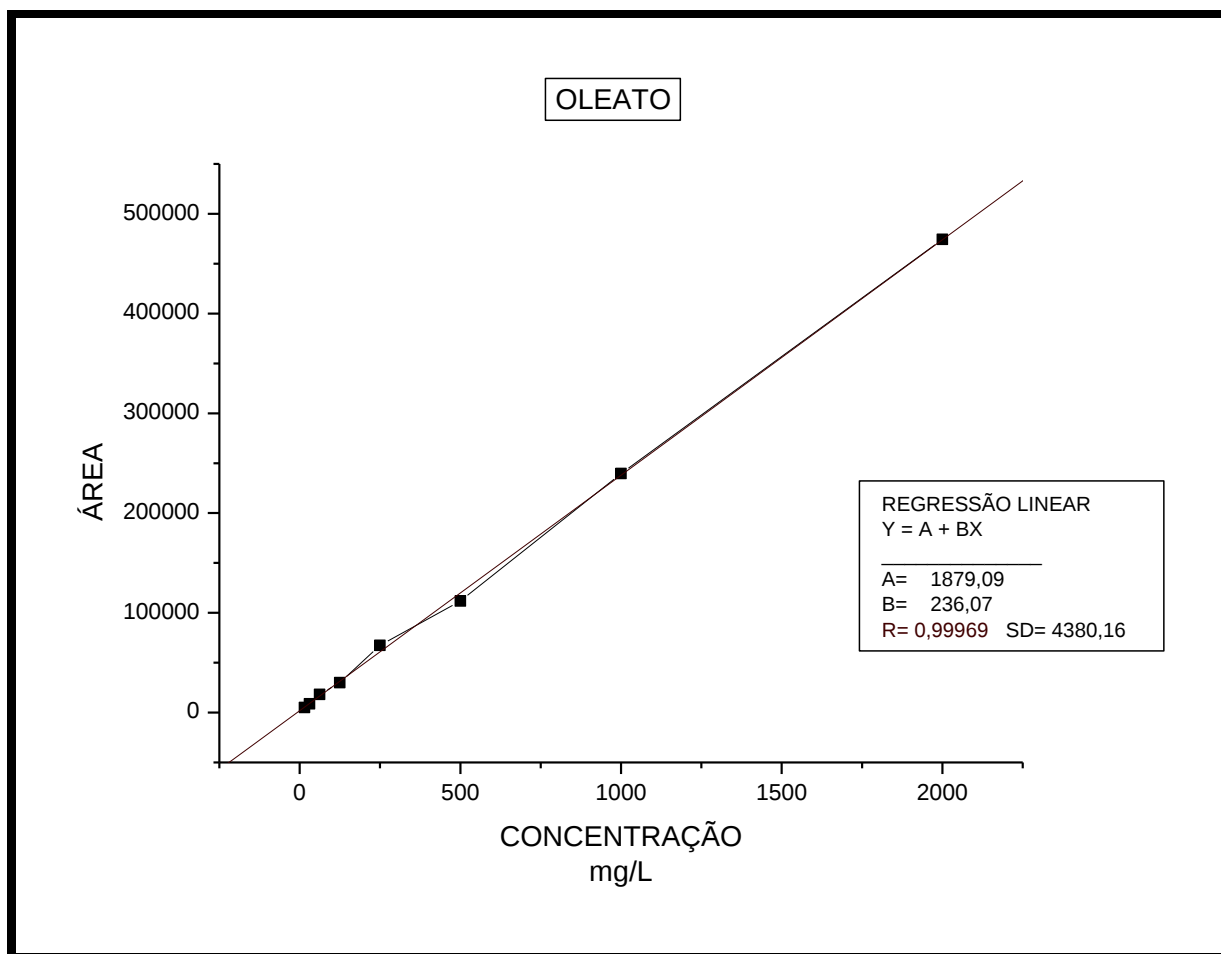


Figura 13 – Curva analítica do oleato de etila após injeção de 1µL das soluções padrão no sistema de CG no intervalo de 15 a 2000 mg/L nas condições cromatográficas otimizadas.

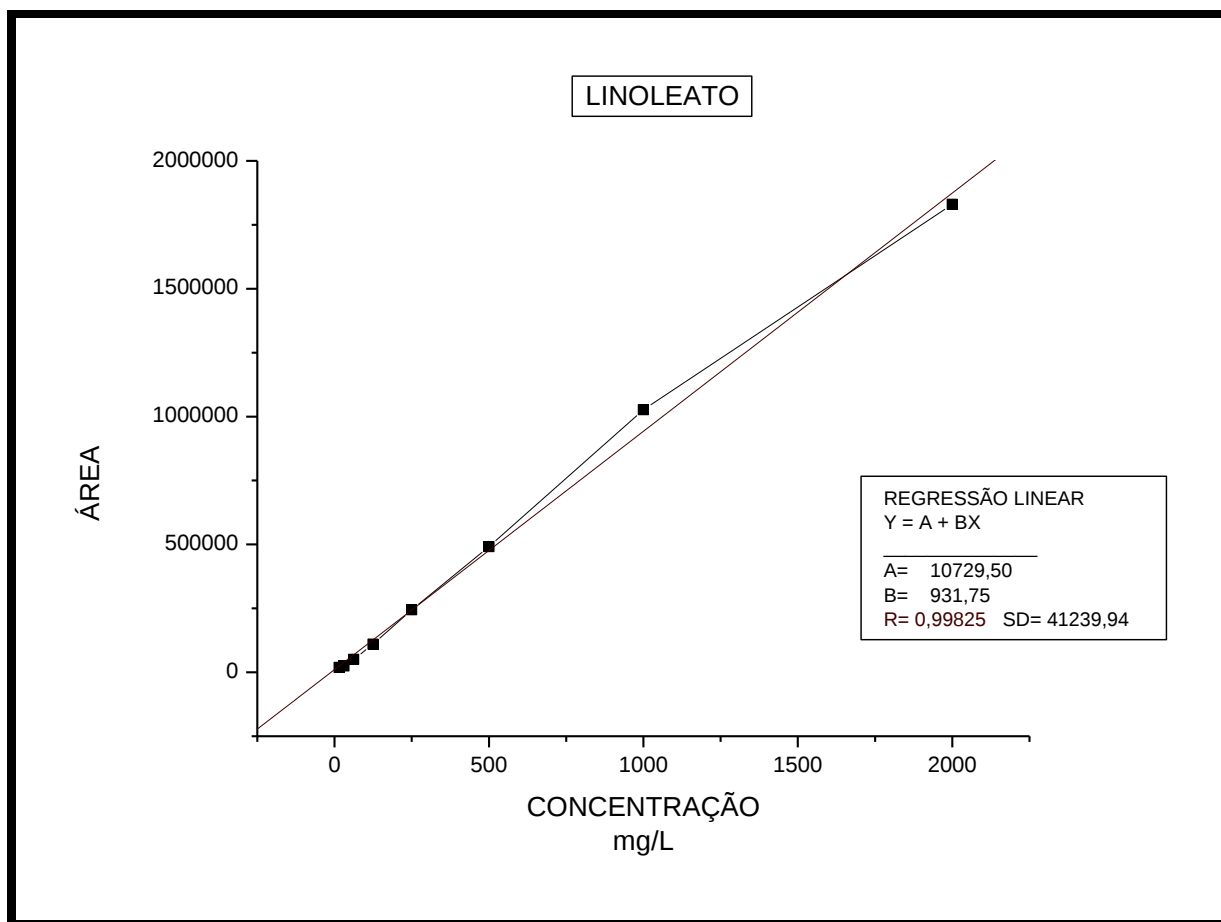


Figura 14 – Curva analítica do linoleato de etila após injeção de 1µL das soluções padrão no sistema de CG no intervalo de 15 a 2000 mg/L nas condições cromatográficas otimizadas.

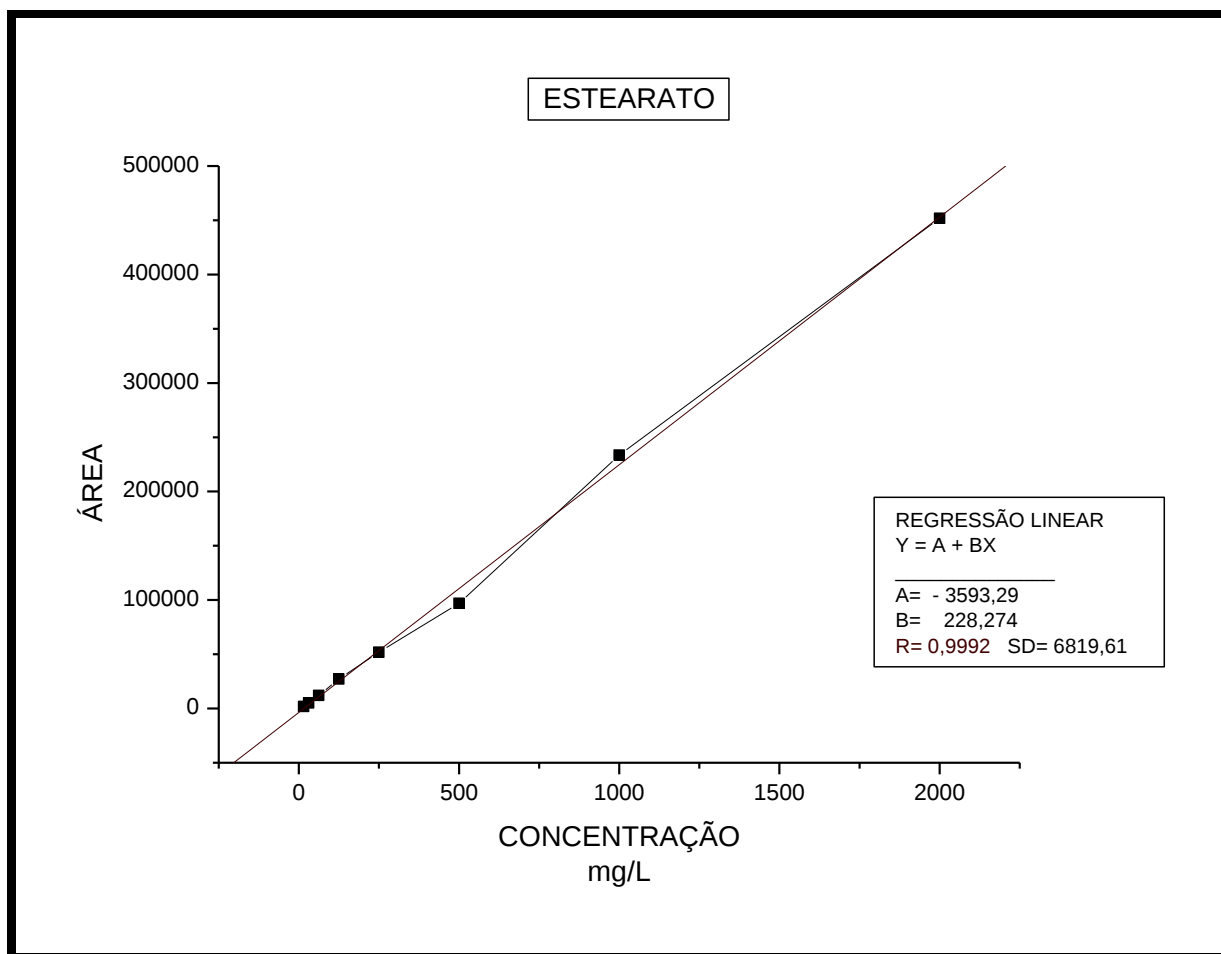


Figura 15 – Curva analítica do estearato de etila após injeção de 1 μ L das soluções padrão no sistema de CG no intervalo de 15 a 2000 mg/L nas condições cromatográficas otimizadas.

O fator de resposta ou linearidade FL, (LEITE, 2002), calculado pela razão da área (sinal analítico) pela concentração e o coeficientes de variação obtidos, estão nas Tabelas 09, 10, 11 e 12. A Figura 16, 17, 18 e 19 mostra o comportamento do fator de resposta em função da concentração. Pode-se afirmar que será possível trabalhar com concentrações dos ésteres palmitato, oleato, linoleato e estearato de etila, nos extremos da reta obtida e dentro da mesma com valores de coeficiente de variação aceitáveis. (LEITE, 2002).

Tabela 9 – Estudo da linearidade da resposta para o sistema de cromatografia gasosa com o detector de ionização de chama (FID) para a determinação do estearato de etila.

Concentração (mg/L)	Área	Área/Concentração A/C
15	2695	179,7
31	5590	180,3
62	12036	194,1
125	27168	217,3
250	51887	207,5
500	97006	194,0
1000	233529	233,5
2000	451888	225,9
Valor Médio	-	204,1
Desvio Padrão	-	20,3
Coefficiente de variação CV %	-	10,1

Tabela 10 – Estudo da linearidade da resposta para o sistema de Cromatografia Gasosa com o detector de ionização de chama (FID) para a determinação do linoleato de etila.

Concentração (mg/L)	Área	Área/Concentração A/C
15	10988	732,5
31	24408	787,3
62	50576	815,7
125	109770	878,1
250	244484	977,9
500	491667	983,3
1000	1026962	1026,9
2000	1830059	915,0
Valor Médio	-	889,6
Desvio Padrão	-	104,7
Coefficiente de variação CV %	-	8,5

Tabela 11 – Estudo da linearidade da resposta para o sistema de cromatografia gasosa com o detector de ionização de chama (FID) para a determinação do oleato de etila.

Concentração (mg/L)	Área	Área/Concentração A/C
15	5040	336,0
31	9225	297,5
62	18216	293,8
125	33061	264,5
250	67305	269,2
500	111781	223,5
1000	239614	239,6
2000	474458	237,2
Valor Médio	-	270,2
Desvio Padrão	-	37,5
Coeficiente de variação CV %	-	7,2

Tabela 12 – Estudo da linearidade da resposta para o sistema de cromatografia gasosa com o detector de ionização de chama (FID) para a determinação do palmitato de etila.

Concentração (mg/L)	Área	Área/Concentração A/C
15	10042	669,4
31	19578	631,5
62	38405	619,4
125	85797	686,4
250	153540	614,2
500	359767	719,5
1000	630190	630,1
2000	1530011	765,0
Valor Médio	-	667,0
Desvio Padrão	-	54,0
Coeficiente de variação CV %	-	12,3

Entende-se que na ausência de erros indeterminados, que flutuam de um modo aleatório, o valor de r (fator de correlação da curva analítica) é igual a 1, e dentro da faixa linear, o fator de resposta (área/concentração) deve ser igual à inclinação da curva analítica obtida $Y = A + BX$. Na presença de erros indeterminados, o que na prática ocorreu, os valores encontrados para o fator de resposta estão descritos nas Tabelas 9, 10, 11 e 12.

O valor de B (inclinação da curva) obtido para as curvas analíticas do estearato, oleato, linoleato e palmitato de etila foram respectivamente 228,3; 236,1; 931,7 e 750,3 sendo que os fatores de resposta (Fr) foram respectivamente 204,1; 270,2; 889,6 e 667,0 com coeficientes de variação de respectivamente 10,1; 7,2; 8,5 e 12,3%. Estes resultados foram considerados bons, por se tratar de um intervalo de concentração bastante significativo (2000 – 15 mg/L) (JENKE, 1996). Valores de coeficiente de variação acima de 2%, para fator de resposta, assume-se um valor de risco e deve-se utilizar da regressão linear conforme mostrado nas Figuras 16, 17, 18 e 19. (LEITE, 2002). Os coeficientes de variação obtidos de 10,1; 7,2; 8,5 e 12,3% para os ésteres estearato, oleato, linoleato e palmitato de etila respectivamente, são considerados satisfatórios para amostras vegetais.

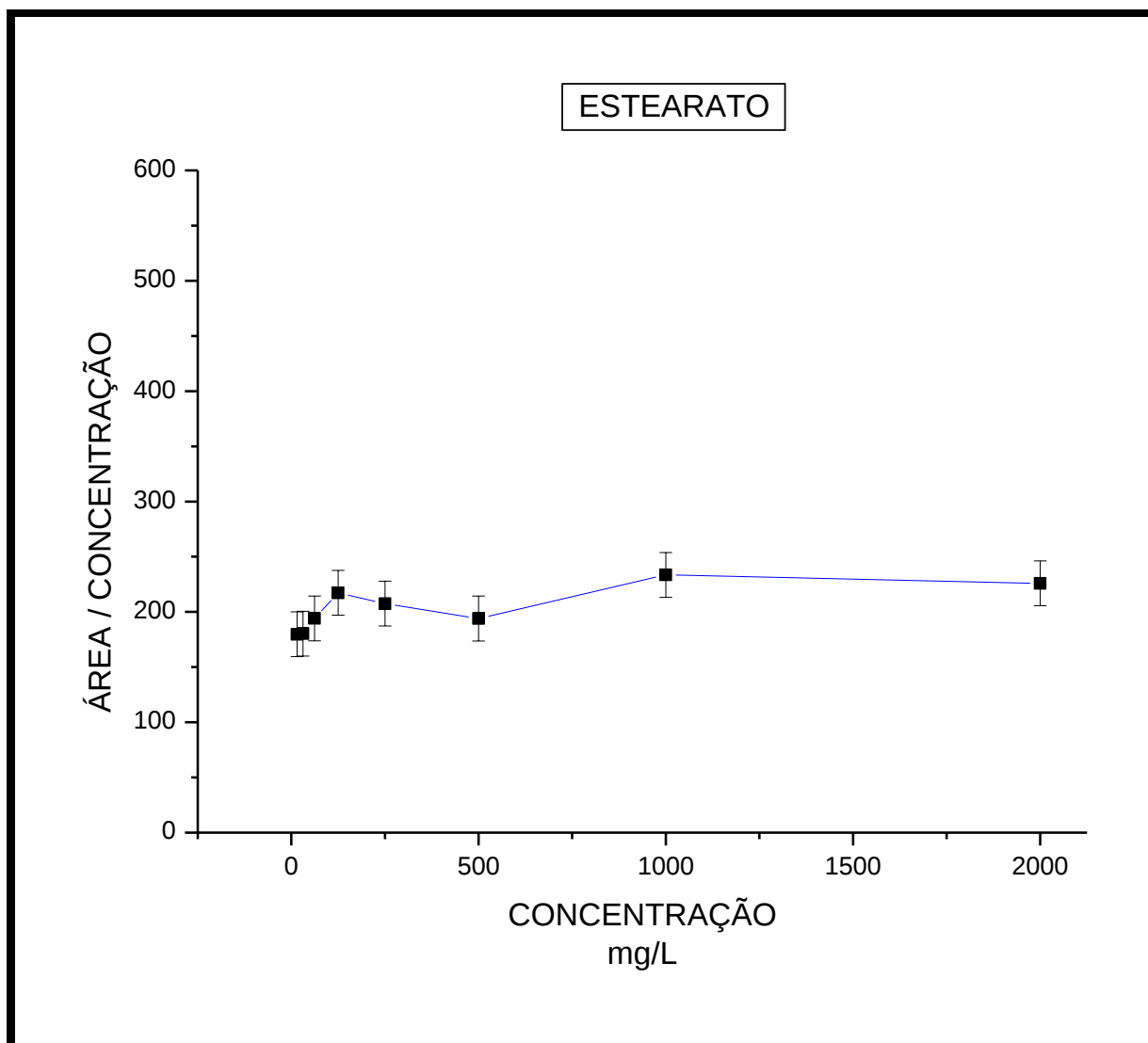


Figura 16: Gráfico obtido para fator de resposta (área/concentração) em função da concentração do estearato de etila na faixa de linearidade de 15 a 2000 mg/L com os respectivos desvios.

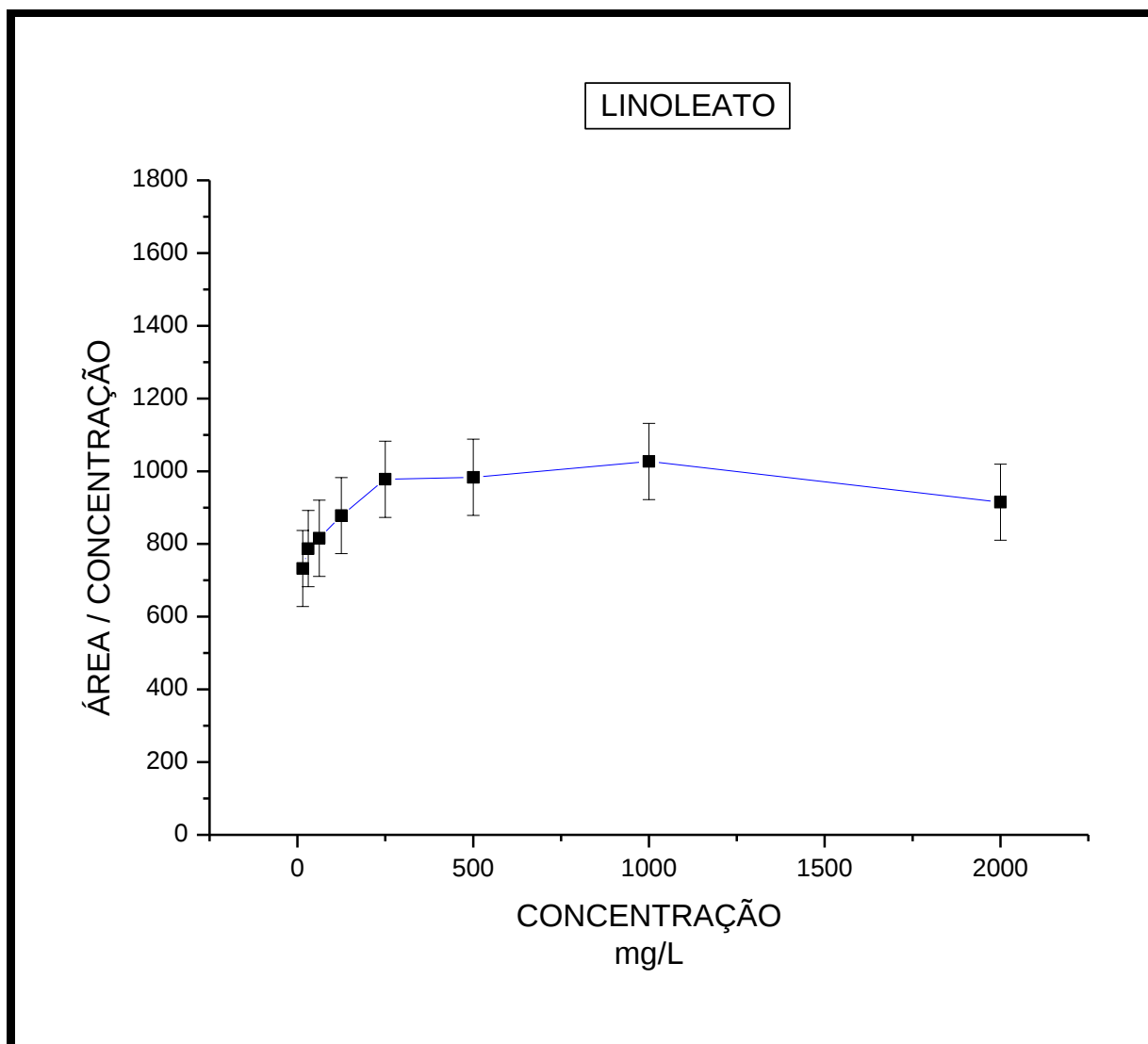


Figura 17: Gráfico obtido para fator de resposta (área/concentração) em função da concentração do linoleato de etila na faixa de linearidade de 15 a 2000 mg/L com os respectivos desvios.

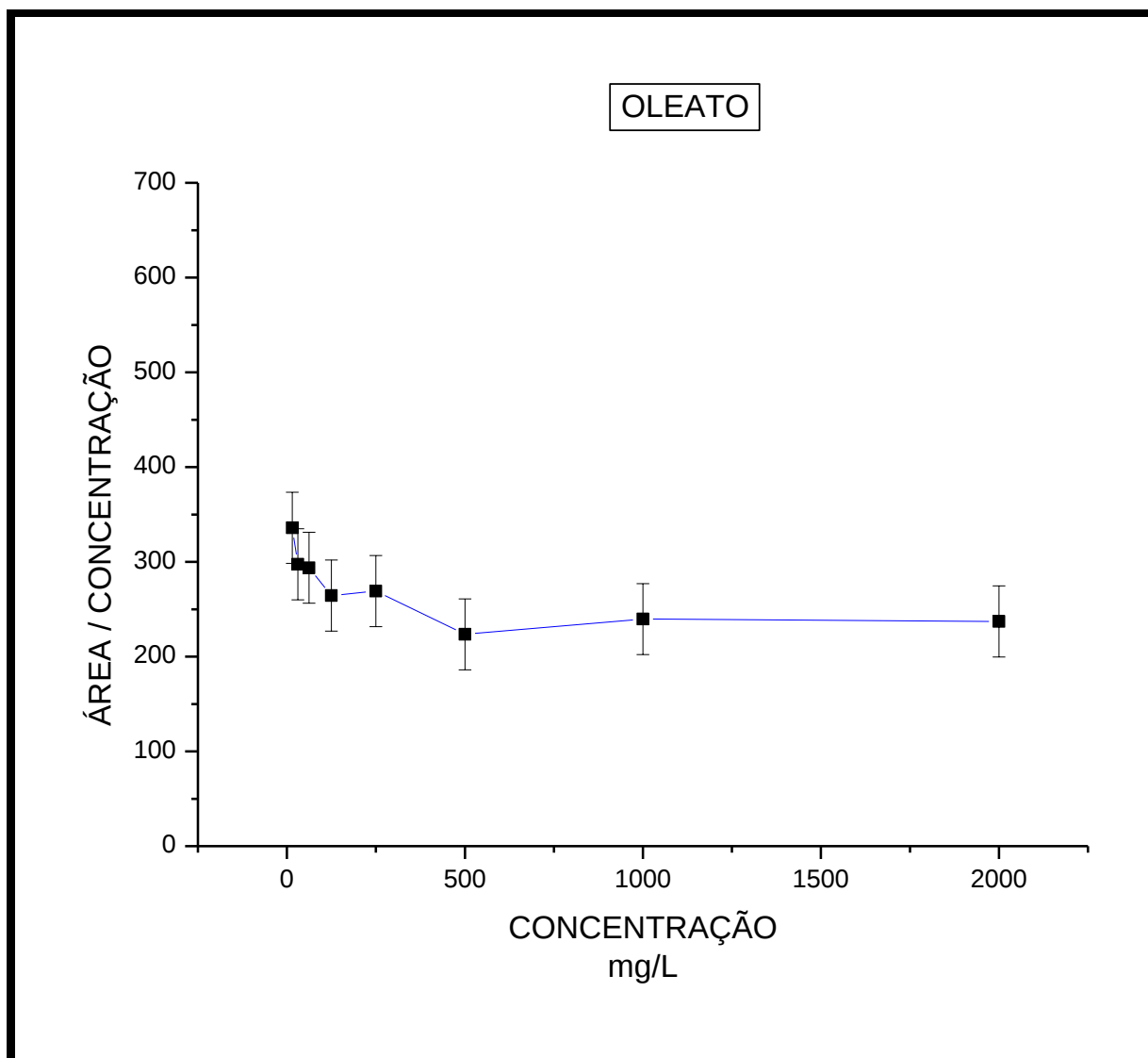


Figura 18: Gráfico obtido para fator de resposta (área/concentração) em função da concentração do oleato de etila na faixa de linearidade de 15 a 2000 mg/L com os respectivos desvios.

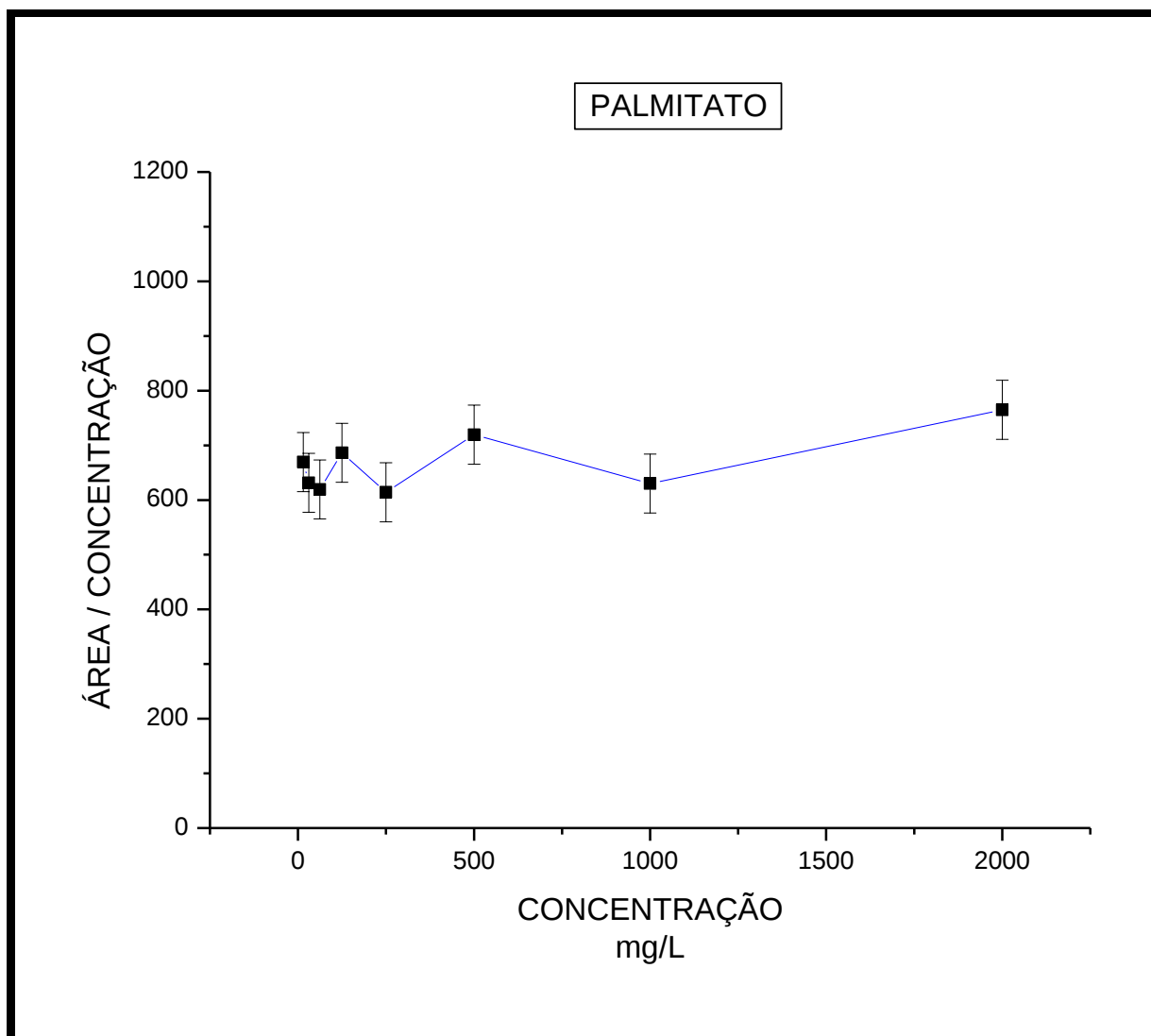


Figura 19: Gráfico obtido para fator de resposta (área/concentração) em função da concentração do palmitato de etila na faixa de linearidade de 15 a 2000 mg/L com os respectivos desvios.

A Figura 20 mostra um cromatograma obtido para concentração de 500mg/L dos ésteres palmitato, oleato, linoleato e estearato de etila, com fator de resposta igual à 681, 211, 807 e 199 respectivamente. Comparando com o valor de B (inclinação da curva analítica) que foram respectivamente 750,3; 236,1; 931,7 e 228,3 obteve-se uma exatidão de -9,2% para o palmitato de etila, -10,6% para o oleato de etila, -13,4% para o linoleato de etila e -12,8% para o estearato de etila, resultados estes considerados satisfatórios conforme descrito na literatura especializada. Este valores estão descritos na Tabela 13.

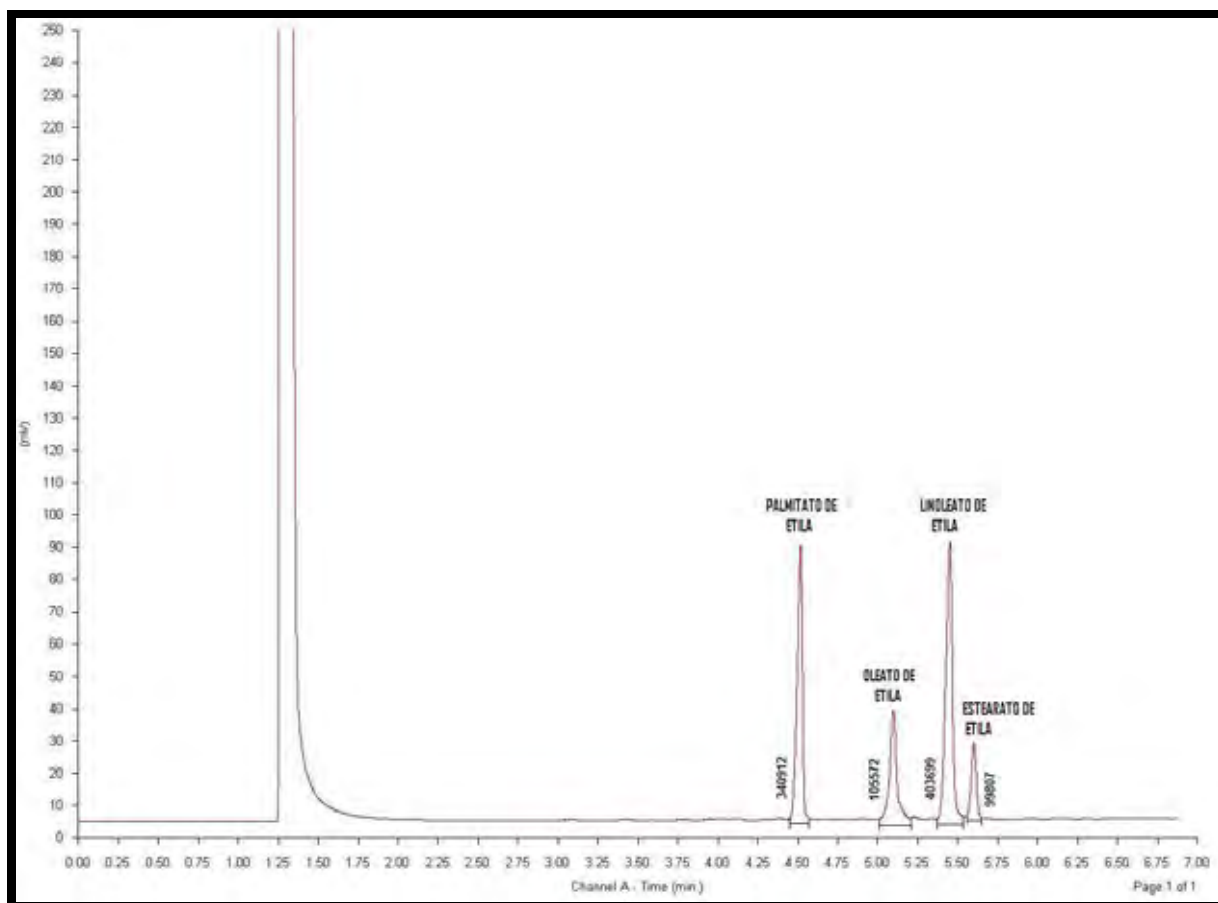


Figura 20: Cromatograma obtido após a injeção de 1 μ L de solução padrão de 500 mg/L de palmitato, oleato, linoleato e estearato de etila no sistema de cromatografia gasosa.

Tabela 13 – Exatidão da método obtido através da relação fator resposta com a inclinação da curva analítica.

Ésteres de ácidos graxos	Fator resposta para concentração de 500mg/L dos ésteres	Valor de b (inclinação da curva analítica) para concentração de 500 mg/L	Exatidão
Palmitato de etila	681	750	-9,2%
Oleato de etila	211	236	- 10,6%
Linoleato de etila	807	932	- 13,4%
Estearato de etila	199	228	-12,8%

4.3 Determinação do limite de detecção e quantificação do método proposto para determinação dos ésteres de palmitato, oleato, linoleato e estearato de etila

O limite de detecção do método, definido como menor quantidade do analito que possa ser detectada mas não necessariamente quantificada no ajuste mais sensível do equipamento, pode ser determinado diretamente pela razão sinal:ruído (JENKE, 1996; CAUSON, 1997; CHASIN et al., 1998; CHIAP et al., 1999 e LANÇAS, 2004) ou pelo método baseando-se nos parâmetros da curva analítica (INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APLIED CHEMISTRY, 1999, INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, 2003 E RIBANI, 2004).

O limite de detecção (LD) foi determinado com a menor concentração que pode ser diferenciada do ruído, na razão sinal/ruído de 3:1. O limite de quantificação (LQ), menor massa ou concentração que pode ser quantificada com exatidão e precisão, foi determinado pela razão sinal ruído de 10:1 ou três vezes o limite de detecção. Os valores de LD e LQ encontrados estão descritos na Tabela 14.

Tabela 14 – Limite de detecção e limite de quantificação para os ésteres de palmitato, oleato, linoleato e estearato de etila.

	LD (mg/L)	LQ (mg/L)
Palmitato de etila	0,46	0,92
Linoleato de etila	0,46	0,92
Oleato de etila	0,61	1,85
Estearato de etila	1,87	3,75

4.4 Avaliação do teor de ácidos graxos presentes na polpa de abacate

Duas espécies de abacate, sendo cinco frutos por espécie, foram submetidas à extração de óleo realizando o procedimento descrito no item 3.1.2.8, e posteriormente foi realizado a derivatização do óleo de acordo com o método

desenvolvido por Hartman e Lago (HARTMAN e LAGO, 1973), conforme descrito no item 3.1.2.10. Em seguida, a alíquota total de ácidos graxos obtida foi diluída 1:10 em hexano, e posteriormente 1µL desta solução foi injetado no sistema cromatográfico. A Figura 21 mostra o cromatograma obtido da injeção de uma destas amostras.

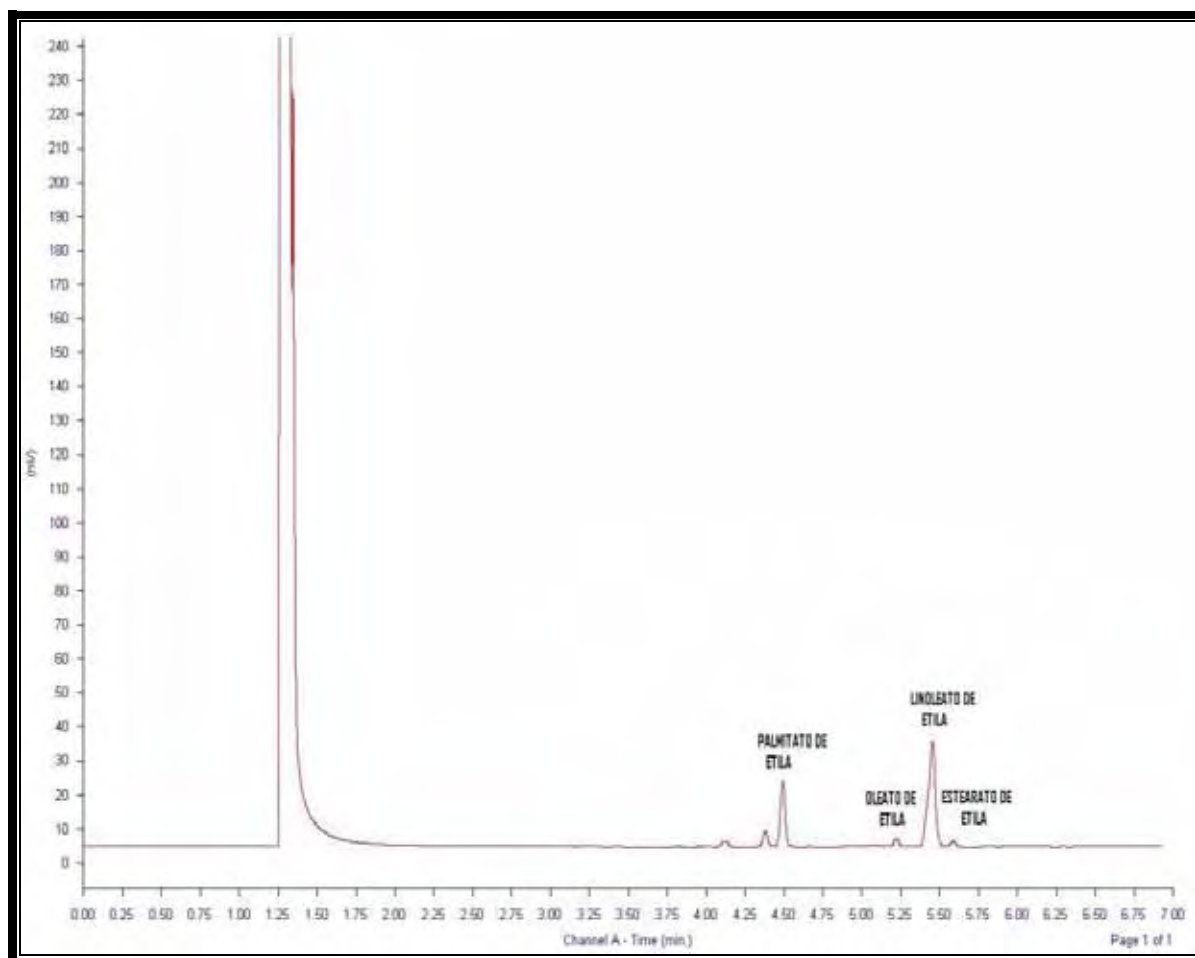


Figura 21 – Cromatograma obtido após a injeção de 1µL de amostra diluída (1:10)

Após a integração dos picos cromatográficos, foi possível efetuar as determinações de ácidos graxos obtidos nas amostras de abacate. Os resultados estão descritos na Tabela 15.

Tabela 15 - Avaliação do teor de ésteres de ácidos graxos presente em duas espécies de abacate.

Valores médios obtidos das cinco amostras de abacate da espécie 1, que foram submetidos a extração de óleo conforme descrito no item 2.1.2.8.

Massa da polpa (g)	Massa de óleo extraído (g)	Teor de Palmitato de Etila	Teor de Oleato de Etila	Teor de Linoleato de Etila	Teor de Estearato de Etila
2.1862	0,0534	21,7 %	0,7%	50,3%	1,7%

Valores médios obtidos das cinco amostras de abacate da espécie 2, que foram submetidos a extração de óleo conforme descrito no item 2.1.2.8.

Massa da polpa (g)	Massa de óleo extraído (g)	Teor de Palmitato de Etila (g)	Massa de Oleato de Etila (g)	Massa de Linoleato de Etila (g)	Massa de Estearato de Etila (g)
2,1378	0,0246	13,8%	0,3%	35,8%	1,3%

Observando os dados da Tabela 15, os teores de ácidos graxos determinados no abacate da espécie 1 foram de 21,7; 0,71; 50,3 e 1,7% (m/m) para ácido palmítico, ácido oléico, ácido linoléico e ácido esteárico respectivamente. Para o abacate da espécie 2 foram obtidos 13,8; 0,27; 35,8 e 1,3% (m/m) para ácido palmítico, ácido oléico, ácido linoléico e ácido esteárico respectivamente. O valor que falta para completar 100% pode estar relacionado a presença de outros ácidos graxos que não foram avaliados por este trabalho

O óleo de abacate caracteriza-se por apresentar teores elevados de ácidos graxos monoinsaturados (oléico e palmitoléico), baixo teor de ácido graxo polinsaturado (linoléico), teor relativamente elevado do ácido graxo saturado palmítico e menor conteúdo do ácido esteárico (saturado). Sua composição em ácidos graxos é muito próxima ao óleo de oliva, principalmente quanto aos altos níveis de ácido oléico. (TURATTI et al., 1985; TANGO et al., 2004).

Vale enfatizar que de acordo com a literatura, a composição de ácidos graxos do óleo de abacate varia de acordo com as cultivares, estágio de maturação, região anatômica do fruto e localização geográfica de crescimento da planta. (TANGO et al., 1972; AHMED E BARMORE, 1990; TANGO et al., 2004).

5 CONCLUSÃO

As extrações propostas por este trabalho basearam-se na eliminação da umidade da polpa e a otimização do contato do solvente com o óleo presente na amostra.

O melhor resultado na extração do óleo foi obtido através da amostra com redução de umidade em forno microondas, uma vez que a eliminação da alta umidade na polpa do abacate é um fator que pode melhorar a extração do óleo, seguido de tratamento com banho ultra-som e posterior maceração com fricção, utilizando hexano como solvente. Observou-se um rendimento maior que 100%, comparando-se com as determinações efetuadas quando se emprega o método convencional AOAC de extração por aparelho Soxhlet com hexano. Além de apresentar um rendimento de 46,3% a mais que o convencional, o tempo gasto para a realização da extração, bem como a quantidade de solvente utilizado e o custo do processo, são bem inferiores quando comparados com o método oficial de extração de óleo por aparelho Soxhlet,

De acordo com resultados obtidos neste trabalho, pode-se concluir que dentre os métodos experimentados para efetuar a extração do óleo presente na polpa de abacate, a hidrólise enzimática, empregando a enzima celulase, seguida pela extração com aparelho Soxhlet, não apresentou resultados satisfatórios. Observou um baixo rendimento de extração, média de 15,9% menor em comparação com o método oficial da Association of Analytical Chemists (AOAC, 1990), e também foi gerada grande quantidade de efluentes.

O método otimizado empregando a técnica de cromatografia gasosa, para as determinações dos níveis de ácidos graxos presentes em amostras de óleo de abacate, mostrou-se adequado, pois obteve-se uma satisfatória separação dos ácidos oléico, linoléico, esteárico e palmítico. O método se fez linear nas concentrações de 15 à 2000mg/L conforme mostrado nos gráficos. De acordo com as curvas analíticas e os respectivos coeficientes de correlação (r^2) foram superiores a 0,99, permite-se inferir que esta metodologia mostrou-se adequada para efetuar as determinações quantitativas dos ésteres de ácidos graxos presentes em amostras de óleo de abacate.

O ácido graxo de maior concentração na polpa de abacate foi o linoléico com 50,3% para espécie 1 e 35,8% para a espécie 2, e o ácido graxo de menor

concentração na polpa de abacate foi o oléico com 0,71% para a espécie 1 e 0,27% para a espécie 2.

REFERÊNCIAS

AHMED, E. M.; BARMORE, C. R. Avocado. In: NAGY, S.; SHAW, P. E.; WARDOWSKI, W. F. (Ed.). **Fruits of tropical and subtropical origin: composition, properties and uses**. Lake Alfred: AVI Publishing, 1990. p. 121-156.

ASSOCIATION OF ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis. AOAC International**. 15th ed. Washington, DC, 1990.

BARNWAL, B. K.; SHARMA, M. P. Prospects of biodiesel production from vegetable oils in india. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 9 p. 363-378, 2005.

BIZIMANA, V.; BREENE, W. M.; CSALLANY, A. S. Avocado oil extraction with appropriate technology for developing countries. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 70, n. 8, p. 821-822, 1993.

BLEINROTH, E. W.; CASTRO, J. V. de. Matéria-prima. In: ABACATE: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos. Campinas: ITAL, 1992. p. 58-147.

BRASIL. Ministério da Indústria e do Comércio. **Produção de combustíveis líquidos a partir de óleos vegetais**. Brasília: Secretaria de Tecnologia Industrial, 1985. 364p.

BRASIL. Ministério da Ciência e Tecnologia. **Programa brasileiro de biocombustíveis: rede brasileira de biodiesel-Probiobiodiesel**. Brasília, 2002.

CANTO, W. L.; SANTOS, L. C.; TRAVAGLINI, M. M. E. Óleo de abacate: extração, usos e seus mercados atuais no Brasil e na Europa. **Estudos Econômicos: Alimentos Processados**, n. 11, p. 1-144, 1980.

CAUSON, R. Validation of chromatographic methods in biomedical analysis: viewpoint and discussion. **Journal of Chromatography, B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 689, n. 1, p. 175-180, 1997.

CHASIN, A. A. M.; NASCIMENTO, E. S.; RIBEIRO NETO, L. M.; SIQUEIRA, M. E. P. B.; ANDRAUS, M. H.; SALVADORI, M. C.; FERNÍCOLA, N. A. G.; GORNI, R.; SALCEDO, S. Validação de métodos toxicológicos: uma abordagem geral. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v. 1, n. 11, p. 1-6, 1998.

CHIAP, P.; HUBERT, P. H.; BOULANGER, B.; CROMMEN, J. Validation of an automated method for the liquid chromatographic determination of atenolol in plasma: application of a new validation protocol. **Analytica Chimica Acta**, v. 391, p. 227-238, 1999.

CODEX ALIMENTARIUS FAO/WHO. Codex Standards for named vegetable oils, Codex Stan 210 (Amended 2003, 2005), Codex Alimentarius, 2005.

COSTA NETO, P. R.; ROSSI, L. F. Produção de biocombustível alternativo ao óleo diesel através da transesterificação de óleo de soja usado em frituras. **Química Nova**, v. 23, n. 4, p. 531-537, 2000.

FAÇABIODIESEL. **Biodiesel**: comparação da produção de energia com diesel e biodiesel analisando todos os custos envolvidos. Disponível em: <<http://www.facabiodiesel.com.br/biodiesel/arquivos/comparacao-da-producao-de-energia-com-diesel-e-biodiesel-analisando-todos-os-custos-envolvidos.htm>>. Acesso em: 25 out. 2007.

HARTMAN, L.; LAGO, R. C. A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v. 22, n. 8, p. 475-476, 1973.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. **DOQ-CGCRE-008**: orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos. Revisão 02: junho/2007. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/CGCRE/DOQ/DOQ-CGCRE-8_02.pdf>. Acesso em: 20 jul. 2009.

INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APLIED CHEMISTRY. **Harmonised guidelines for the use of recovery information in analytical measurement:** technical report. 1999. Disponível em: <<http://www.eurachem.ul.pt/guides/recovery.pdf>>. Acesso em: 12 ago. 2007.

JAUBERT, J. N. Une nouvelle technique de préparation et de raffinage de l'huile d'avocat. **Fruits**, v. 25, n. 4, p. 292-294, 1970.

JENKE, D. R. Chromatographic method validation: a review of current practices and procedures I. General concepts and guidelines. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, v. 5, n. 19, p. 719-736, 1996a.

JENKE, D. R. Chromatographic method validation: a review of current practices and procedures II. General concepts and guidelines. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, v. 5, n. 19, p. 737-757, 1996b.

JIMENEZ, M. E.; AGUILAR, M. R.; ZAMBRANO, M. L.; KOLAR, E. Propriedades físicas y químicas del aceite de aguacate obtenido de puré deshidratado por microondas. **Revista la Sociedad Química de México**, v. 45, n. 2, p. 89-92, 2001.

JIMENEZ, O. El aceite de aguacate. **Suelo Tico**, v. 7, n. 30, p. 221-226, 1954.

LANÇAS, F. M. **Validação de métodos cromatográficos de análise**. São Carlos: RiMa, 2004. 62 p.

LANG, X.; DALAI, A. K.; BAKHSHI, N. N.; REANEY, M. J.; HERTZ, P. B. Preparation and characterization of bio-diesels from various bio-oils. **Bioresource Technology**, v. 80, p. 53-62, 2001.

LÁSZLÓ, F. **O óleo de abacate**: potencial fonte de beta-sistotol para tratamento de próstata, cardíacos e imunológicos. Disponível em: <<http://www.aromalandia.org/abacate.htm>>. Acesso em: 14 nov. 2006.

LEBEDEVAS, S.; VAICEKAUKAS, A.; LEBEDEVA, G.; MAKAREVICIENE, V.; JANULIS, P.; KAZANCEV, K. Use of waste fats of animal and vegetable origin for the production of biodiesel fuel: quality, motor properties, and emissions of harmful components. **Energy Fuel**, v. 20, p. 2774, 2006.

LEITE, F. **Validação em análise química**. 4. ed. Campinas: Átomo, 2002.

LEONEL, M.; JACKY, S.; CEREDA, M. P. Processamento industrial de fécula de mandioca e batata-doce – um estudo de caso. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 3, p. 343-345, 1998.

MA, F.; HANNA, M. Biodiesel production: a review. **Bioresource Technology**, v. 70, p. 1-15, 1999.

MARQUES, V. M.; SILVA, C. F. G.; NACIUK, F. F.; FONTOURA, M. A. L. A química, os processos de obtenção e as especificações do biodiesel. **Revista Analytica**, v. 33, p. 72-86, 2008.

MELO, J. C.; TEIXEIRA, J. C.; BRITO, J. Z.; PACHECO, J. G. A.; STRAGEVITCH, L. Produção de biodiesel de óleo de oiticica. In: CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DO BIODIESEL, 1., 2006, Brasília. **Artigos técnico-científicos...** Brasília, 2006. Disponível em: <<http://www.biodiesel.gov.br/docs/congressso2006/producao/Oiticica14.pdf>>. Acesso em: 12 jan. 2009.

MONTANO, G. H.; LUH, B. S.; SMITH, L. M. Extracting and refining avocado oil. **Food Technology**, v. 16, n. 2, p. 96-101, 1962.

MONTENEGRO, H. W. S. **A cultura do abacateiro**. São Paulo: Melhoramentos, 1960. (Criação e Lavoura, 11).

MORENO, A. O.; DORANTES, L.; GALÍNDEZ, J.; GUZMÁN, R. I. Effect of different extraction methods on fatty acids, volatile compounds, and physical and chemical properties of avocado (*Persea americana* Mill.) oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 2216-2221, 2003.

OLAETA, J. A. C.; UNDURRAGA, P. M. Estimacion del indice de madurez en paltos. In: KUSHWAHA, L.; SERWATOWSKI, R.; BROOK, R. (Ed.) **Harvest and postharvest technologies for fresh fruits and vegetables**: proceedings of the international conference. Guanajuato: ASAE, 1995. p. 421-426.

RAMOS, L. P.; DOMINGOS, A. K.; KUCEK, K. T.; WILHELM, H. M. Biodiesel: um projeto de sustentabilidade econômica e sócio-ambiental para o Brasil. **Biotecnologia**: Ciência e Desenvolvimento, v. 31, p. 28-37, 2003.

RIBANI, M.; BOTTONI, G. B. C.; COLLINS, H. C. S.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2005.

ROJAS, V. A. **Extracción enzimática y caracterización del aceite de palta**. Disponível em: <http://www.avocadosource.com/papers/Chile_papers_A-Z/A-B-C/Costa_Vernica2003.pdf>. Acesso em: 20 set. 2007.

SADIR, R. Olio di abacate: tecnologia dell'estrazione e industrializzazione dei residui. **La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse**, v. 49, n. 2, p. 90-93, 1972.

SILVA, L. R. **Informações sobre a exploração do óleo de abacate, métodos de extração, características e algumas aplicações deste óleo**. Resposta Técnica produzida pelo serviço brasileiro de respostas técnicas /ISBRT. Disponível em: <<http://www.sbrt.ibict.br>>. Acesso em: 20 out. 2008.

SQUIZATO, R. Fugindo da soja. **Revista Biodieselbr**, v. 5, p. 49-53, 2008.

TANGO, J. S.; TURATTI, J. M. Óleo de abacate. In: ABACATE: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos. Campinas: ITAL, 1992. p. 156-192.

TANGO, J. S.; CARVALHO, C. R. L.; SOARES, N. B. Característica física e química de frutos de abacate visando a seu potencial para extração de óleo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 1, p. 17-23, 2004.

TANGO, J. S.; COSTA, S. I.; ANTUNES, A. J.; FIGUEIREDO, I. B. Composition du fruit et de l'huile de différentes variétés d'avocats cultivés dans l'Etat de São Paulo. **Fruits**, v. 27, p. 143-146, 1972.

TURATTI, J. M.; SANTOS, L. C.; TANGO, J. S.; ARIMA, H. K. Caracterização do óleo de abacate obtido por diferentes processos de extração. **Boletim do ITAL**, v. 22, p. 267-284, 1985.

WERMAN, M. J.; NEEMAN, I. Avocado oil extraction with appropriate technology for developing. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 62, n. 2, p. 229-232, 1987.

ZILLER, S. **Grasas y aceites alimentarios**. Zaragoza: Acribia, 1995.