



UMA NOVA METODOLOGIA PARA EXTRAÇÃO DE LIPÍDIOS TOTAIS EM FILÉ DE PEIXE

Gisele Cristina Almeida de Oliveira (PIBIC/CNPq/Uem), Ingrid de Lima Figueiredo, Paula Fernandes Montanher, Eliza Mariane Rotta, Makoto Matsushita, Jesuí Vergílio Visentainer (Orientador), e-mail: jesuiv@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Exatas, PR.

Ciências Agrárias / Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Palavras-chave: lipídios, extração, ácidos graxos.

Resumo:

A determinação do teor de lipídios em carne de peixe é realizada, geralmente com o uso de solventes orgânicos de alta toxicidade, como clorofórmio e metanol utilizados no método convencional de Bligh & Dyer (1959). Visando a química verde, este trabalho teve como objetivo propor uma metodologia de extração de lipídios totais (LT), em filé de sardinha, empregando solventes com menor toxicidade (hexano e acetona). A extração dos lipídios foi realizada utilizando-se a nova metodologia comparativamente com a técnica de Bligh & Dyer. Os LT obtidos nas metodologias foram fracionados por cromatografia de coluna clássica, em lipídios neutros e polares, e submetidos as análises de ácidos graxos por cromatografia em fase gasosa. Os resultados indicaram que a metodologia proposta pode ser excelente opção na extração de LT em carne de peixe considerando que, em comparação com a metodologia de Bligh & Dyer apresentou elevada extração utilizando-se pouco solvente e ainda que na separação das classes de lipídios, em polares e neutros, apresentou o mesmo rendimento da partição significando poucas perdas durante a extração.

Introdução

Entre vários métodos encontrados na literatura para determinar a quantidade de lipídios totais (LT), o método de Bligh & Dyer (1959) o qual foi desenvolvido para amostras de peixe, é o mais utilizado, pois apresenta capacidade de extrair tanto os lipídios neutros (triacilgliceróis, diacilgliceróis, monoacilgliceróis e esteróis) quanto os lipídios polares (ácidos graxos livres, fosfolipídios e esfingolipídios), eficientemente (Iverson *et al.*, 2009). Por outro lado, para sua execução, se faz necessário o uso de solventes orgânicos



tóxicos, o que vai contra as práticas da química verde, tornando-se um desafio contínuo de pesquisadores no desenvolvimento nas diversas áreas de pesquisa, não causar danos ao meio ambiente. Desta forma, este trabalho teve por objetivo propor uma nova metodologia para extração de LT em carne de peixe, utilizando solventes com a menor toxicidade (hexano e acetona) quando comparados ao metanol e clorofórmio os quais são empregados no método de extração de Bligh & Dyer, utilizado como referência.

Materiais e métodos

Foram adquiridos cerca de 2 kg de sardinhas (*Sardinella brasiliensis*) em Maringá - PR. O filé foi separado e moído, até obtenção de uma pasta para análise. A extração dos lipídios totais foi realizada utilizando a metodologia convencional de Bligh & Dyer (1959) e pela nova metodologia proposta. No desenvolvimento do novo método foi necessário um estudo prévio do equilíbrio entre os solventes, a partir de um diagrama de fases, para conhecer a proporção na qual estes permaneceriam em um sistema monofásico. Em seguida, nove pontos aleatórios foram escolhidos abrangendo o máximo de regiões do diagrama, para realizar o estudo da nova metodologia de extração, porém sem elevar a quantidade de solvente. Após extração dos LT, pelas diferentes metodologias, estes foram fracionados em lipídios neutros (LN) e lipídios polares (LP) usando cromatografia em coluna clássica de acordo com as especificações de Johnston *et. al.*, (1983). Em seguida os LT foram submetidos ao processo de transesterificação e esterificação de acordo com Joseph & Ackman (1992) e os ésteres metílicos foram separados pela técnica de cromatografia em fase gasosa com detector de ionização em chama (FID). As concentrações dos ácidos graxos nas amostras foram calculados de acordo com Visentainer (2012) e os resultados expressos em mg g^{-1} de LT.

Resultados e Discussão

A quantidade de LT obtida do filé de sardinhas, em cada ponto do experimento, para a metodologia proposta e para o método de Bligh & Dyer estão apresentados na Tabela 1. Dentre os experimentos realizados, o ponto D foi o que apresentou uma maior quantidade de LT ($2,42 \pm 0,06 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$), contudo o volume total de solvente utilizado nesse ponto foi de 264,0 mL, dessa forma a utilização de um volume tão grande de solvente tornaria a metodologia inviável. Porém, o ponto A apesar de apresentar a menor quantidade de solvente, apresentou uma quantidade de LT em média 38% menor comparado a quantidade obtida pela metodologia Bligh & Dyer ($1,17 \pm 0,09 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$).

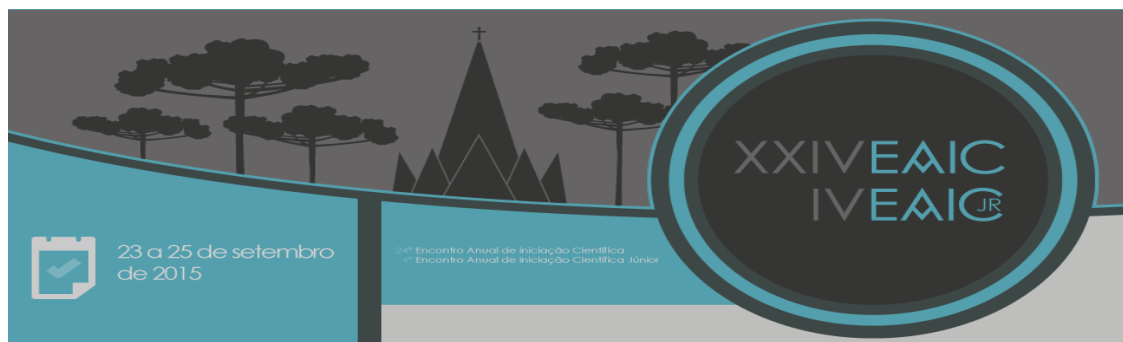


Tabela 1 - Porcentagem de lipídios totais obtidos em cada ponto do diagrama de fases e pela metodologia Bligh & Dyer.

Experimentos	Volume total (mL)	Lipídio total (g 100g ⁻¹)
A	36	0,72 ± 0,01
B	60	1,13 ± 0,01
C	98	1,32 ± 0,03
D	264	2,42 ± 0,06
E	43	1,00 ± 0,05
F	52	0,77 ± 0,03
H	28	0,60 ± 0,02
I	40	1,05 ± 0,03
J	85	1,08 ± 0,01
Bligh e Dyer	75	1,17 ± 0,09

Assim, considerando o volume total utilizado para a extração e a quantidade de LT extraído, o ponto B foi escolhido, por ter sido utilizado pouco solvente e ter um valor de LT aproximado ao resultado da metodologia de Bligh & Dyer.

Tabela 2 – Somatório da concentração dos ácidos graxos (mg g⁻¹ LT) das frações neutra e polar e total dos filés de sardinha submetidos à extração de LT pela metodologia proposta e pelo método de Bligh & Dyer (1959).

	Total		Fração polar		Fração neutra	
	Novo método	Bligh & Dyer	Novo método	Bligh & Dyer	Novo método	Bligh & Dyer
AGS	364,11± 6,57	356,78 ±6,28	157,34±2, 55	130,88±3, 92	201,51±5, 51	207,44 ±4,73
AGMI	128,15± 1,10	136,47 ±2,16	44,55±1,2 0	48,80± 0,92	65,53±1,2 2	95,08± 1,69
AGPI	426,14± 8,23	415,87 ± 8,34	232,79±5, 75	203,86±8, 56	127,76±1, 53	141,95 ±2,05

AGS= Somatório da concentração de ácidos graxos saturados; AGMI= Somatório da concentração de ácidos graxos monoinsaturados; AGPI= Somatório da concentração de ácidos graxos poli-insaturados.

Os LT obtidos do experimento do ponto B e por Bligh & Dyer foram separados em lipídios neutros e polares com o intuito de verificar a eficiência da extração dessas duas classes de lipídios pelos dois métodos. A Tabela 2 apresenta o somatório da concentração dos ácidos graxos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI) e polinsaturados (AGPI) dos LT e das frações neutra e polar, para os dois métodos. Para a análise de ácidos graxos sobre a quantidade de lipídios totais, o somatório de AGPI foi maior para os dois métodos seguidos do somatório de AGS e AGMI. Para a fração polar, os



dois métodos apresentaram quantidades de AGPI maiores seguido do AGMI e AGS. Na fração neutra as maiores quantidades foram de AGS seguidas de AGPI e AGMI.

Conclusões

A utilização dos solventes hexano e acetona propostos na nova metodologia de extração de LT de filé de peixe, mostrou-se eficiente quando se utilizou um volume total de 60 mL dos solventes hexano, acetona e água. Condições onde a separação de fases ocorre mais rapidamente, podendo-se utilizar uma menor quantidade total de solvente e obter resultados similares de LT quanto comparado à tradicional metodologia de Bligh & Dyer. A viabilidade da nova metodologia foi comprovada pela quantidade de LT obtida e pela composição em ácidos graxos na fração polar e neutra, comparáveis a metodologia de referência. A nova metodologia poderá ser utilizada na extração de lipídios totais com eficiência.

Agradecimentos

Ao CNPq, Capes e ao Departamento de Química – UEM

Referências

BLIGH, E.G., DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959.

IVERSON, S. J., LANG S.L.C., COOPER M. H. Comparison of the Bligh and Dyer and Folch methods for the total lipid determination in broad range of marine tissue. **Lipids**, v. 36, n. 11, p.1283-1287, 2001.

JOHNSTON, J.J., GHANBARI, H.A., WHEELER, W.B., KIRK, J.R. Characterization of shrimp lipids. **Journal of Food Science**, v. 48, n. 1, p. 33-35, 1983.

JOSEPH, J. D., ACKMAN, R. G. Capillary column gas chromatography method for analysis of encapsulated fish oil and fish oil ethyl esters: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 75, n. 3, p. 488-506, 1992.

VISENTAINER, J. V. Aspectos analíticos da resposta do detector de ionização em chama para ésteres de ácidos graxos em biodiesel e alimentos. **Química Nova**, v. 35, n. 2, p. 274-279, 2012.