

# DETERMINAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS EM ALIMENTOS POR CROMATOGRAFIA GASOSA

DETERMINATION OF FATTY ACID IN FOOD BY GAS CHROMATOGRAPHY

Gabriely Caroline de Mello Volkmann<sup>1</sup>

Grace Jenke<sup>2</sup>

Laís Cristina Kremer<sup>3</sup>

## RESUMO

Ácidos graxos são substâncias orgânicas de origem vegetal ou animal que formam os óleos e as gorduras. Em sua composição, encontramos o grupo carboxila ( $-\text{COOH}$ ) ligado a uma longa cadeia alquílica, saturada ou insaturada. Eles são considerados compostos orgânicos, por apresentarem moléculas de carbono e hidrogênio em suas moléculas. Em nosso organismo, os ácidos graxos são transformados em fonte de energia para as células, que se tornam importantes nutrientes atuando como vitaminas lipossolúveis (não solúveis em água). O objetivo deste estudo é apresentar como são feitas as determinações de ácidos graxos em alimentos através da Cromatografia Gasosa. O processo de preparo de amostras consiste em extrair os ácidos graxos com o solvente orgânico n-hexano de pureza grau HPLC e submeter a amostra a uma reação de transesterificação. Para as análises, foi utilizado um cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas. A partir da área de cada pico, que corresponde a um determinado ácido graxo encontrado no cromatograma e do valor de lipídeos total, foi calculado a concentração de ácidos graxos saturados, insaturados e *trans* presentes na amostra.

PALAVRAS-CHAVE: Ácidos Graxos; Cromatografia Gasosa; Gordura Saturada; Gordura Insaturada; Gordura Trans.

---

<sup>1</sup>Graduanda do Curso de Engenharia Química da Fundação Universidade Regional de Blumenau – FURB – SC;

<sup>2</sup>Graduada do Curso de Engenharia Química da Fundação Universidade Regional de Blumenau – FURB – SC;

<sup>3</sup>Graduanda do Curso de Engenharia Química da Fundação Universidade Regional de Blumenau – FURB – SC;

Timbó – SC, Agosto de 2017.

## **INTRODUÇÃO**

Ácidos graxos são compostos orgânicos que apresentam um grupo carboxila em uma de suas extremidades, de cadeias abertas e longas, com 4 a 22 átomos de carbono, que podem ser saturadas e insaturadas (duplas ligações, quimicamente mais instáveis). Quando possuem apenas uma dupla ligação são denominados monoinsaturados e quando possuem duas ou mais duplas ligações são chamados de poliinsaturados.

Estes compostos são ácidos provenientes de óleos e gorduras vegetais. São solúveis em solventes orgânicos e, geralmente, insolúveis em água.

A determinação dos ácidos graxos pode ser feita através de cromatografia gasosa, onde é realizada a extração dos ésteres dos ácidos graxos, que são analisados e determinados pelo cromatógrafo gasoso.

A cromatografia é utilizada para a separação e quantificação de compostos voláteis ou semi-voláteis com características físico-químicas muito semelhantes em misturas complexas. Trata-se da separação de misturas por interação diferencial dos seus componentes entre uma fase estacionária (líquido ou sólido) e uma fase móvel (líquido ou gás).

Um dos grandes diferenciais da cromatografia frente às outras técnicas analíticas é que o limite de detecção obtido pela cromatografia pode ser cerca de 100 a 1000 vezes menor do que aquele obtido por outros métodos de separação (PENTEADO; MAGALHÃES; MASINI, 2008).

## **ÁCIDOS GRAXOS**

Ácidos graxos, também conhecido como gorduras, são substâncias que fazem parte das moléculas de lipídios, que são compostos orgânicos encontrados em tecidos do corpo humano como nas células de gordura e também nas membranas celulares. Os lipídeos podem ser classificados em lipídeos compostos, formados basicamente por moléculas de glicerol e de ácidos graxos (ligados ou não a aminoálcoois) ou lipídeos simples, que não produzem ácidos graxos após o processo de hidrólise (COSTA e NASCIUTTI, 2015).

Como já mencionado anteriormente, os ácidos graxos são compostos orgânicos que são classificados em subcategorias de acordo com a sua forma molecular. São também ácidos monocarboxílicos que possuem longas cadeias de hidrocarbonetos e em sua maioria possui um número par de carbonos. O composto pode ser classificado em saturado ou insaturado de acordo com as ligações presentes na molécula (MOTTA, 2000).

Os ácidos graxos podem ser encontrados em fontes de gordura vegetal e animal, sendo assim é consumido por diversas espécies. Para a saúde humana, se não consumida

de forma adequada, pode acarretar em sérios problemas de saúde, entre eles o que mais afeta são os problemas cardiovasculares, os quais são responsáveis pelo maior número de mortes no mundo (COSTA e NASCIUTTI, 2015).

## **ÁCIDOS GRAXOS SATURADOS**

O ácido graxo saturado possui como sua característica a ausência de duplas ligações em sua cadeia de hidrocarbonetos. Estes, são encontrados em fonte de gordura animal em sua maioria e, em menor quantidade, em fontes vegetais.

Para a saúde humana, o consumo em excesso de ácidos graxos saturados pode acabar acarretando sérios problemas de saúde, pois este é responsável pelo aumento do colesterol, o que pode elevar as chances de doenças como infarto, acidentes vasculares, entre outros (LOTTENBERG, 2009).

Existem uma infinidade de ácidos graxos saturados. Alguns exemplos que podem ser citados são o ácido mirístico, palmítico, esteárico, caprílico, cáprico e láurico.

## **ÁCIDOS GRAXOS INSATURADOS**

Os ácidos considerados insaturados se caracterizam por conta do seu número de ligações duplas podendo ser classificados em monoinsaturado (contém apenas uma insaturação) ou poliinsaturado (contém mais que uma insaturação). São classificados também de acordo com o posicionamento de suas ligações duplas, sendo assim, são divididos em três séries:  $\omega$ -3,  $\omega$ -6 e  $\omega$ -9.

Diferente dos ácidos graxos saturados, que possuem uma cadeia carbônica linear, os ácidos insaturados apresentam a cadeia carbônica não-linear, que ocorre por consequência de sua geometria molecular *cis-trans* presentes nas ligações duplas (LOTTENBERG, 2009).

Dentre os compostos insaturados podemos citar o ácido palmitoléico e oléico.

## **ÁCIDOS GRAXOS TRANS**

Os ácidos graxos *trans* são obtidos a partir dos ácidos graxos insaturados que ocorrem a partir do processo de hidrogenação. Apesar de termodinamicamente menos estáveis, os ácidos graxos *cis* ocorrem predominantemente na natureza, devido à estereoespecificidade das enzimas que atuam na biossíntese de lipídios. Durante o processo de hidrogenação parcial de óleos vegetais, ocorre a reação de isomerização com formação dos ácidos graxos *trans* (MERÇON, 2010).

O processo de hidrogenação pode ocorrer de duas maneiras, sendo de forma que ocorra naturalmente ou induzida artificialmente. A forma natural de hidrogenação pode ocorrer na transformação por microorganismos em alimentos originados de animais ruminantes, que gera derivados como o leite e carne. Também pode ser encontrado de forma natural em alimentos como ervilha, repolho e romã. A forma artificial ocorre a partir de “dois processos induzidos termicamente: a desodorização industrial, que visa à remoção de componentes voláteis de sabor e odor indesejáveis; e a reutilização prolongada de óleos na fritura de alimentos” (Wolff, 1994; Martin e cols., 2005).

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

Os materiais utilizados no processo de obtenção dos ácidos graxos foram: agitador de tubo tipo vórtex, banho-maria, balança analítica, tubos de centrifuga com tampa, tubos de 200ml, pipeta de 10ml, pipeta de Pasteur, pipetas volumétricas de 2 a 5ml, concentrador de amostras por nitrogênio, centrífuga e cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas.

Para o preparo das amostras utilizou-se o solvente n-Hexano de pureza padrão HPLC e preparou-se as seguintes soluções para a reação de esterificação:

- ✓ Solução de hidróxido de sódio 0,5 M em metanol (grau cromatográfico);
- ✓ Solução saturada de cloreto de sódio;
- ✓ Solução esterificante – Pesar 10 g de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  e adicione 300 mL de metanol seguido de 15 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , adicionado em pequenas porções com agitação.

## **ETAPAS DO MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS**

Para o preparo de amostras para determinação dos ácidos graxos, foram seguidas as seguintes etapas:

- ✓ Pesar 2,0 g de amostra homogeneizada em um tubo de centrifuga com tampa;
- ✓ Adicionar 9 mL de hexano e homogeneizar em vórtex por 1 min;
- ✓ Adicionar 4 mL de KCl 0,72% e agitar em vórtex por 1 min;
- ✓ Centrifugar por 5 minutos a 3800 RPM;
- ✓ Transferir 5 mL da fase superior (hexano) para um tubo de 200 mL e evaporar totalmente sob corrente de Nitrogênio em banho a aproximadamente 50 °C;
- ✓ Adicionar 4 mL de NaOH 0,5M em metanol e agitar em vórtex por 30 segundos;
- ✓ Levar ao banho-maria fervente por 5 min e, em seguida, resfriar em água gelada;
- ✓ Adicionar 5 mL de solução esterificante e agitar em vórtex por 10 segundos.

- ✓ Banho fervente por 5 min e resfriar em água gelada;
- ✓ Adicionar 4 mL de NaCl 20% e agitar em vórtex por 10 segundos;
- ✓ Acrescentar 5 mL de hexano e agitar em vórtex por 10 segundos;
- ✓ Deixar em repouso até a separação das fases;
- ✓ Transferir a fase superior (hexano) para um vial de 2 mL para a análise por cromatografia em fase gasosa;
- ✓ Analisar os ésteres o mais rápido possível para evitar a perda dos mais voláteis.

## **ANÁLISE CROMATOGRÁFICA**

Os ésteres de ácidos graxos foram analisados em um Cromatógrafo Gasoso 7890 A (Agilent), utilizando uma coluna capilar HP – 05 MS (NST) CB (30m x 0,25mm x 0,25µm) acoplado à um Espectrômetro de Massas 5975 C (Agilent). O fluxo do gás de arraste (Hélio) utilizado é de 1,2 mL.min<sup>-1</sup>. A rampa de aquecimento da coluna foi programada para iniciar a 60°C durante 1 minuto.

Em seguida, a temperatura foi elevada para 210°C a uma taxa de 10°C por minuto, permanecendo nesta temperatura por 1 minuto. Por fim, a temperatura foi elevada até 300°C a uma taxa de 5°C por minuto. As temperaturas do injetor e detector foram de 260°C e 280°C, respectivamente. São injetados 1µL das amostras esterificadas.

A quantificação é realizada por normalização das áreas dos picos, e a identificação dos picos por comparação dos tempos de retenção das amostras com os de padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos (AccuStandard NHI-003N e NHI-004).

## **OBTENÇÃO DE RESULTADOS**

A partir da área de cada pico, que corresponde a um determinado ácido graxo encontrado no cromatograma e do valor de lipídeos total, é possível calcular a concentração de ácidos graxos saturados, insaturados e *trans* presentes na amostra. A primeira etapa consiste em transformar a % de área de éster metílico em concentração de ácidos graxos. Para este cálculo é utilizado um fator de correção F (tabelado) obtido da quantidade em massa do ácido graxo nas diferentes classes de lipídios totais e das diferentes massas dessas classes existentes em cada alimento. O fator de correção leva em consideração a quantidade em massa de ácido graxo nas diferentes classes (triglicerídeos e fosfolipídios, principalmente) e das diferentes massas dessas classes existentes em cada alimento.

Deste modo, o cálculo utilizado é:

$$\text{g ácido graxo/ 100g de alimento} = \% \text{ área} \times F \text{ (decimal)} \times LT \text{ (decimal)}$$

Onde:

LT = lipídios totais

F = fator de correção

## CONCLUSÃO

Lipídios são compostos solúveis em solventes orgânicos e, geralmente, insolúveis em água. São principalmente ésteres de alto peso molecular que abrangem um grande número de substâncias. Deste modo, a determinação dos ácidos graxos em alimentos por cromatografia gasosa ocorre com os lipídios da amostra sendo extraídos, onde a gordura é solubilizada e separada da amostra.

Logo após, são submetidos a reações de saponificação, onde ocorre a quebra da cadeia de gordura com liberação dos ácidos graxos e esterificação, onde há a conversão dos ácidos graxos em ésteres metílicos para que possam ser detectados no cromatógrafo gasoso.

A identificação ocorre por comparação com os tempos de retenção de padrões de ésteres de ácidos graxos disponíveis. Assim, a quantificação é feita pela normalização das áreas obtidas para cada pico. A concentração é calculada a partir das porcentagens obtidas para cada éster metílico de ácido graxo, multiplicadas pelo teor de lipídios na amostra e por fatores de conversão conforme o tipo de alimento.

## REFERÊNCIAS

COSTA, Ana; NASCIUTTI, Priscilla. **Ácidos graxos e o sistema cardiovascular**. Goiânia, 2015.

IAL - Instituto Adolfo Lutz- **Métodos físicos químicos para análises de alimentos – 056/IV: Preparação de éteres metílicos de ácidos graxos**.

ITAL - Instituto de Tecnologia de Alimentos. CTC - Centro de Tecnologia de Carnes: **Determinação da composição dos ácidos graxos**.

LOTTENBERG, Ana. **Importância da gordura alimentar na prevenção e no controle de distúrbios metabólicos e da doença cardiovascular**. São Paulo. 2009.

MERÇON, Fábio. **O que é uma gordura trans?** Rio de Janeiro. 2010.

MOTTA, Valter. **Bioquímica básica**. São Paulo. 2011.