



## COMPOSIÇÃO EM ÁCIDOS GRAXOS DE FILÉS DE TILÁPIA E SEPARAÇÃO EM CLASSES DE LIPÍDIOS

*Beatriz Costa e Silva<sup>1</sup>; Hevelyse Munise Celestino dos Santos<sup>2</sup>; Paula Fernandes Montanher<sup>1</sup>; Joana Schuelter Boeing<sup>1</sup>; Jesuí Vergílio Visentainer<sup>3</sup>*

**RESUMO:** As principais classes de lipídios são a dos neutros, fosfolipídios e glicolipídios. A separação em classes ou frações de lipídios, neutros (LN) e polares (LP), que incluem os fosfolipídios e os glicolipídios, por extração em fase sólida, é um procedimento comum para os pesquisadores de carne e é importante a fim de se obter a composição de ácido graxo real de cada fração. O fracionamento dos lipídios totais provenientes de filés de tilápia separou as classes de ácidos graxos, sendo os monoinsaturados predominantes na fração neutra e os saturados e poli-insaturados na fração polar.

**PALAVRAS-CHAVE:** Chia; Ômega-3; Ômega-6; Separação em classes de lipídios.

### 1. INTRODUÇÃO

As principais classes de lipídios são a dos lipídios neutros (LN), fosfolipídios (FL) e glicolipídios (GL). Os lipídios neutros incluem as substâncias ou subclasses de triacilgliceróis (TAG), diacilgliceróis, monoacilgliceróis, alquil-diacilgliceróis, plasmalogenos neutros, esteróis (principalmente colesterol livre e esterificado), ceras e ácidos graxos livres. Os fosfolipídios podem ser classificados como lipídios complexos e são quaisquer compostos contendo ácido fosfórico como mono ou diéster, ou seja, incluem os glicerofosfolipídios e esfingomielina. O termo glicolipídio é usado para descrever qualquer composto contendo uma ou mais moléculas de monossacarídeos, unidas através de uma ligação glicosídica a uma parte lipídica, englobando os glicoglicerolipídios e alguns esfingolipídios (cerebrosídeos, sulfatídeos e gangliosídeos) (Christie, 1989).

Os lipídios neutros são lipídios de armazenamento, ou seja, armazenam a energia dos organismos vivos, enquanto que os fosfolipídios e os glicolipídios são lipídios polares (LP) e são componentes das membranas, atuando como uma barreira à passagem de moléculas polares e íons. Nos fosfolipídios o grupo polar da cabeça está unido à porção hidrofóbica por uma ligação fosfodiéster. Os glicolipídios, não apresentam fosfato, mas possuem um açúcar simples ou um oligossacarídeo complexo em suas extremidades polares (Nelson *et al.*, 2011).

O fracionamento lipídico em classes é importante a fim de se obter a composição em ácido graxo (AG) real que cada fração é constituída. Desta forma, o objetivo do

<sup>1</sup> Pós-graduanda do Departamento de Química da Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá – Paraná.

<sup>2</sup> Pós-graduanda do Programa de Ciências de Alimentos da Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá – Paraná. lyse\_munise@yahoo.com.br

<sup>3</sup> Orientador, professor do Departamento de Química da Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá – Paraná. jesuiv@gmail.com

trabalho foi determinar a composição em AG de filés de tilápia e realizar a separação em classes de lipídios.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Os lipídios totais (LT) dos filés de tilápia foram determinados segundo Bligh e Dyer (1959) e a transesterificação e esterificação dos ácidos graxos dos LT foram realizadas segundo o método de Joseph e Ackman (1992). Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram separados em um cromatógrafo a gás. Thermo, modelo trace ultra 3300, equipado com um detector de ionização em chama e coluna capilar de sílica fundida CP - 7420 (Select FAME, 100 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de cianopropil/polisiloxano). O fluxo de H<sub>2</sub> (gás de arraste) foi de 1,2 mL/min, com 30mL/min de N<sub>2</sub> (make up); e 35 e 300mL/min, para o H<sub>2</sub> e ar sintético, respectivamente, para a chama do detector. O volume injetado foi de aproximadamente 2,0 µL, utilizando *split* 1:80, sendo as temperaturas do injetor e detector de 240°C, enquanto a coluna de 185°C durante 7,5 min e elevada a 235°C com taxa de 4 °C/min, mantida por 1,5 min, totalizando 21,50 min. Os tempos de retenção dos analitos e as porcentagens de área dos picos correspondentes foram obtidos através da integração pelo Software Chronquest versão 5.0.

Os ácidos graxos foram identificados a partir da comparação de seus tempos de retenção com padrões Sigma (EUA) de composição conhecida, através da coeluição. A quantificação absoluta dos ésteres metílicos de ácidos graxos foi realizada através da padronização interna, utilizando como padrão o metil éster do ácido tricosanoico (23:0), da marca Sigma (USA), e os cálculos realizados segundo método de Joseph e Ackman (1992). Os valores do fator de correção teórico para o FID (detector de ionização de chama) (Visentainer, 2012) foram usados para a determinação dos valores de concentrações. O teor dos ácidos graxos nas amostras foram calculados em mg g<sup>-1</sup> de lipídios totais utilizando a Equação 1.

$$\text{Equação 1} \quad \text{AG} = \frac{A_X M_P F_{CT}}{A_P M_X F_{CAE}} \times 100$$

onde: AG é a concentração em mg de ácidos graxos por g de lipídios totais, A<sub>X</sub> é a área do pico (ácidos graxos), A<sub>P</sub> é a área do pico do padrão interno (PI) metil éster do ácido tricosanoico (23:0), M<sub>P</sub> é a massa do PI (em mg) adicionada à amostra (em mg), M<sub>X</sub> é a massa da amostra (em mg), F<sub>CT</sub> é o fator de correção teórica e F<sub>CAE</sub> é o fator de conversão necessária para expressar os resultados em mg de ácidos graxos em vez de ésteres metílicos.

Os LT dos filés de tilápia foram fracionados em lipídios neutros e lipídios polares por cromatografia em coluna clássica. O processo foi realizado em uma coluna de cromatografia de vidro com 30 cm de comprimento por 2 cm de diâmetro interno, contendo 25 g de sílica gel 60 (70-230 mesh, Merck) como adsorvente, de acordo com as especificações de Johnston *et al.* (1983). A eluição das frações LN e LP foram realizados utilizando o método descrito por Maia e Rodriguez-Amaya (1992), com as seguintes sequências de eluição: Fração I - LN (200 ml de uma mistura de clorofórmio com 20 por cento de acetona), Fração II - LP (200 ml de metanol). Os solventes de eluição foram removidos em evaporador rotativo sob vácuo a 32°C com um fluxo de N<sub>2</sub>. As frações foram transferidas para um frasco de vidro âmbar 7 mL e armazenadas a -18 °C.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste trabalho um total de 36 ácidos graxos foi identificado na composição de ambas dos filés de tilápia. A separação das classes de lipídios mostrou variações nas percentagens de ácidos graxos nas frações de lipídios neutros (LN) e de lipídios polares (LP), na amostra de filés de tilápias. Dos lipídios totais ( $2,20 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$  de filé),  $67,66 \pm 1,83\%$  corresponde aos LN e  $18,90 \pm 0,06\%$  para os LP, ou seja, o rendimento da separação foi de 86,56%, o que indica uma boa recuperação e perdas mínimas. A Tabela 1 apresenta a composição em ácidos graxos e as percentagens destes nas frações LN e LP da amostra analisada.

O ácido graxo saturado (AGS) palmítico (16:0) foi encontrado em maiores quantidades na fração LN e o ácido esteárico na fração LP. O ácido graxo monoinsaturado (AGMI) oleico (18:1n-9) foi encontrado em grandes quantidades em ambas as classes lipídicas. Os ácidos graxos docosahexaenoico (DHA, 22:6n-3) e linoleico (LA, 18:2n-6) foram os ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) encontrados em maiores quantidades nas frações polar e neutro, respectivamente. Em relação aos aspectos tecnológicos, os teores de ácidos graxos de valor funcional podem ser concentrados utilizando a técnica de separação em frações lipídicas, isso pode ser observado na Tabela 1, onde foram obtidas maiores concentrações dos ácidos graxos araquidônico (AA, 20:4n-6), eicosapentaenoico (EPA, 20:5n-3) e DHA na fração polar, sendo esses ácidos graxos essenciais para o bom funcionamento dos olhos, membranas, manutenção dos fosfolipídios, desenvolvimento do cérebro e sistema nervoso central (Lira *et al.*, 2004). Na fração LN foram predominantes os AGMI, enquanto que na LP os AGS e os AGPI. A razão AGPI/AGS, assim como, a razão dos ácidos graxos ômega-6 pelos ácidos graxos ômega-3 (n-6/n-3) foi superior na fração LN (1,06 e 3,89) quando comparados com a fração LP (0,90 e 1,68). Esse fato pode ser explicado pela elevada concentração de AGPI n-6 na fração LN.

**Tabela 1.** Composição em ácidos graxos ( $\text{mg g}^{-1}$  de LT) dos filés de tilápia de 45 dias do tratamento II separados em classes de lipídios.

Ácidos graxos	Lipídios polares	Lipídios neutros
14:0	1,80±0,16	14,93±0,49
14:1n-9	0,40±0,01	0,96±0,00
14:1n-7	0,19±0,01	0,51±0,03
14:1n-5	0,32±0,04	1,52±0,04
15:0	26,62±0,93	0,53±0,04
<b>16:0</b>	<b>61,18±0,46</b>	<b>172,49±5,11</b>
16:1n-9	1,38±0,16	4,16±0,24
16:1n-7	3,79±0,08	29,02±1,05
16:1n-5	0,17±0,01	0,42±0,02
17:0	0,62±0,11	0,81±0,05
17:1n-11	2,31±0,06	2,42±0,14
17:1n-9	31,62±1,94	0,96±0,07
17:1n-7	46,91±3,46	2,37±0,04
18:0	142,17±3,77	55,56±0,76
18:1n-11	6,04±0,17	2,87±0,72
<b>18:1n-9</b>	<b>61,50±0,23</b>	<b>260,30±10,29</b>
18:1n-7	14,68±0,23	10,63±1,20
18:1n-5	0,91±0,04	2,67±0,12
<b>18:2n-6 (LA)</b>	<b>64,57±0,60</b>	<b>175,73±4,29</b>
18:3n-6	2,08±0,01	7,30±0,31
18:3n-3	9,06±0,03	44,03±1,30

20:0	2,53±0,06	1,71±0,00
20:1n-9	9,07±0,27	11,85±0,01
20:1n-7	0,19±0,00	0,40±0,04
20:2n-6	11,30±0,13	7,47±0,12
21:0	2,04±0,16	1,29±0,06
20:3n-6	14,10±0,32	8,85±0,18
<b>20:4n-6 (AA)</b>	<b>68,36±10,28</b>	<b>10,96±4,07</b>
20:4n-3	2,94±0,00	2,15±0,12
22:0	1,49±0,00	1,08±0,04
22:1n-9	1,04±0,01	0,75±0,07
<b>20:5n-3 (EPA)</b>	<b>2,00±0,06</b>	<b>0,58±0,02</b>
22:4n-6	36,72±0,55	6,28±0,24
24:0	110,13±0,59	8,17±0,45
24:1n-9	19,92±0,40	3,60±0,05
<b>22:6n-3 (DHA)</b>	<b>104,55±3,05</b>	<b>8,88±0,52</b>
AGS	348,57±3,97	256,56±5,22
AGMI	200,32±4,03	335,41±10,45
AGPI	314,22±11,15	272,24±6,10
n-6	197,14±10,31	216,60±5,93
n-3	117,09±4,24	55,64±1,40
n-6/n-3	1,68±0,11	3,89±0,14
AGPI/AGS	0,90±0,03	1,06±0,03

AGS = total de AG saturados; AGMI = total de AG monoinsaturados; AGPI = total de AG poli-insaturados;  
n-6 = total de AG n-6; n-3 = total de AG n-3.

#### 4. CONCLUSÃO

O fracionamento dos lipídios totais separou as classes de ácidos graxos, sendo os monoinsaturados predominantes na fração neutra e os saturados e poli-insaturados na fração polar. Os teores de ácidos graxos de valor funcional, como o DHA, AA e EPA podem ser concentrados na fração polar utilizando a técnica de separação em frações lipídicas.

#### 5. REFERÊNCIAS

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

CHRISTIE, W. W. *Gas chromatography and Lipids: A practical guide*. Dundee: The oily Press Ltd, 1989.

JOHNSTON, J.J.; GHANBARI, H.A.; WHEELER, W.B.; KIRK, J.R. Characterization of shrimp lipids. *Journal of Food Science*, v. 48, 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, p. 488-506, 1992.

LIRA, G. M.; MANCINI FILHO, J.; SANT`ANA, L. S.; TORRES, R. P.; OLIVEIRA, A. C.; OMENA, C. M. B.; SILVA NETO, M. L. Perfil de ácidos graxos, composição centesimal e valor calórico de moluscos crus e cozidos com leite de coco da cidade de Maceió-Al. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 40, p. 529-537, 2004.

MAIA, E.L.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Fatty acid composition of the total, neutral and phospholipids of the Brazilian freshwater fish *Colossoma macropomum*. *Food Sciences and Human Nutrition*, v. 7, p. 633-642, 1992.

NELSON, D. L.; COX, M. M. *Princípios de Bioquímica de Lehninger*. (5a ed.) Porto Alegre: Artmed, p. 343-357, 2011.

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, p. 274-279, 2012.