

Área: Ciência de Alimentos

RÁPIDA TRANSESTERIFICAÇÃO DE TRIACILGLICERÓIS ASSISTIDA POR MICRO-ONDAS

Aline Lisbôa Medina*, Neura Bragagnolo

*Laboratório de Química de Alimentos, Departamento de Ciência de Alimentos, Universidade Estadual de
Campinas, Campinas, SP.
E-mail: medinaline@gmail.com*

RESUMO – Nesse estudo foi desenvolvido e validado um novo método de transesterificação de ácidos graxos de pernil suíno assistida por micro-ondas para análise por cromatografia gasosa, sem a utilização de trifluoreto de boro (BF_3). Um delineamento central composto rotacional foi utilizado para a avaliação do tempo de irradiação e da concentração de hidróxido de sódio em metanol, tendo como resposta os teores dos ácidos graxos 16:0, 18:0, 18:1n-9 e 18:2n-6. As condições ótimas do processo foram: 5 minutos de irradiação e 0,5 % de hidróxido de sódio em metanol, além dos parâmetros fixos como a temperatura de 60 °C à 400 W, e 25 mg de lipídios. A validação foi realizada pela comparação entre o método otimizado e o método convencional com BF_3 como catalizador, utilizando amostras de pernil suíno e material de referência certificado. Os teores de ácidos graxos do pernil suíno obtidos pela transesterificação assistida por micro-ondas não diferiram dos teores obtidos pelo método convencional. Os resultados obtidos para material de referência certificado mostraram-se semelhantes ao valor declarado. A transesterificação de ácidos graxos assistida por micro-ondas demonstrou ser exata e precisa, permitindo a reação sem BF_3 em menor tempo.

Palavras chave: pernil suíno, trifluoreto de boro, material de referência, validação.

1 INTRODUÇÃO

As técnicas cromatográficas, especialmente cromatografia gasosa (Gas Chromatography, GC) e cromatografia líquida de alta eficiência (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) são muito utilizadas na análise de lipídios em alimentos. Na análise de ácidos graxos, GC desempenha um papel importante devido à excelente habilidade de separação de compostos de misturas complexas que envolvem isomeria geométrica e posicional (LEDOUX et al., 2000).

A análise tradicional de ácidos graxos necessita da derivação para formar compostos voláteis à temperaturas menores. A grande maioria dos trabalhos na literatura utiliza o BF_3 como catalizador na forma de complexo com metanol (SANCHO et al., 2011; MAZALLI E BRAGAGNOLO, 2007; BADIANI et al, 2002).

Entretanto, o BF_3 , apesar de sua eficiência, apresenta algumas desvantagens tais como ser um reagente tóxico, de alto custo e com vida de prateleira limitada. Além disso, seu uso pode resultar na produção de interferentes ou perda de ácidos graxos poli-insaturados (ZARA et al., 2012; FULK e SHORB, 1970).

As reações assistidas por micro-ondas apresentam maior rapidez, alto rendimento, alta pureza dos produtos e as condições de reação são menos drásticas. Alguns estudos já demonstram o uso da irradiação de micro-ondas para transesterificação de ácidos graxos provenientes de óleos vegetais para análise em GC, porém, utilizam reagentes tóxicos como o BF_3 , metóxido de sódio e tolueno para a reação (ZARA et al., 2012; JEYASHOKE et al., 1998).

O objetivo desse trabalho foi desenvolver e validar um método rápido de transesterificação de lipídios extraídos de pernil suíno assistida por micro-ondas para análise de ácidos graxos por cromatografia gasosa sem o uso do BF_3 como catalizador. A otimização deste método foi realizada utilizando um delineamento composto central rotacional e a validação pela comparação entre o método otimizado e o método de Joseph e Ackman (1992) utilizando amostras de pernil suíno e material de referência certificado.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

A amostra de carne de pernil suíno (600 g) foi adquirida no comércio de Campinas, SP, sendo retirada a gordura superficial e homogeneizada em multiprocessador. A extração dos lipídios foi realizada segundo o método descrito por Folch et al. (1957) e, para fins de comparação com o método de transesterificação assistida por micro-ondas desenvolvido, foi realizada a esterificação segundo Joseph e Ackman (1992).

Foi utilizado sistema extrator de micro-ondas Start-E (Milestone, Sorisole, Itália) para as reações de transesterificação assistidas por micro-ondas, onde os lipídios da amostra foram submetidos à irradiação de micro-ondas à 60 °C com agitação magnética e potência de 400 W, sendo os ésteres metílicos dos ácidos graxos extraídos com iso-octano.

O tempo de irradiação e a concentração de NaOH em metanol foram determinados através de delineamento estatístico experimental, o qual utilizou-se delineamento composto central rotacional (DCCR) 2^2 adicionando-se 3 pontos centrais e 4 pontos axiais, compreendendo 11 ensaios que foram realizados de maneira aleatória de acordo com o software Statistica 7.0. Como resultados foram avaliados os teores dos ácidos graxos majoritários da amostra, 16:0, 18:0, 18:1n-9 e 18:2n-6.

Foi utilizado um cromatógrafo gasoso GC-2010 (Shimadzu, Kyoto, Japão) para a determinação dos ácidos graxos, sendo as condições cromatográficas realizadas de acordo com Sancho et al (2011).

A validação do método foi avaliada quanto à precisão e exatidão, através da comparação dos resultados obtidos pelo método otimizado com o método proposto por Joseph e Ackman (1992) e pela utilização de material de referência certificado de carnes homogeneizadas (SRM 1546, NIST).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A matriz do DCCR contendo os resultados dos teores de ácidos graxos obtidos com a transesterificação assistida por micro-ondas dos lipídios de pernil suíno é apresentada na tabela 1. De acordo com a esterificação segundo Joseph e Ackman (1992), foram encontrados os valores de 791,91 para 16:0, 304,28 para 18:0, 1349,19 para 18:1n-9 e 1148,17 para 18:2n-6 (todos em mg/100g), observando-se que os ensaios 1, 3, 5 e os pontos centrais apresentam valores muito próximos aos encontrados pelo método de Joseph e Ackman (1992).

Tabela 1 – Matriz do DCCR para transesterificação de triacilgliceróis dos lipídios de pernil suíno assistida por micro-ondas

Ensaio	Variáveis independentes		Variáveis dependentes (mg/100g)			
	Tempo (min)	Conc. NaOH (%)	16:0	18:0	18:1n-9	18:2n-6
1	3	0,5	888,79	293,19	1487,63	1092,57
2	9	0,5	322,35	106,80	574,03	410,89
3	3	1,5	750,17	265,43	1339,73	943,95
4	9	1,5	207,83	70,59	368,14	257,97
5	2	1,0	769,59	246,38	1264,80	934,16
6	10	1,0	540,59	179,44	938,79	657,06
7	6	0,3	237,87	44,70	333,55	398,33
8	6	1,7	94,34	38,25	174,71	114,78
9	6	1,0	991,39	350,56	1771,59	1248,92
10	6	1,0	875,59	291,75	1491,59	1069,87
11	6	1,0	942,93	319,55	1638,50	1153,04

Após a análise estatística (coeficiente de regressão e ANOVA) quatro superfícies de resposta foram geradas, que são apresentadas na figura 1. A análise de superfícies de todos os ácidos graxos estudados indicou tendência semelhante: foram obtidos os melhores teores dos ácidos graxos estudados com tempo de irradiação menor que 6 minutos e no intervalo de concentração de NaOH em metanol de 0,5 a 1,5 %.

Figura 1 – Superfícies de resposta para a transesterificação dos ácidos graxos 16:0 (a), 18:0 (b), 18:1n-9 (c) e 18:2n-6 (d) de pernil suíno (mg/100g) assistida por micro-ondas em função da concentração de NaOH em metanol (%) e do tempo de irradiação (min)

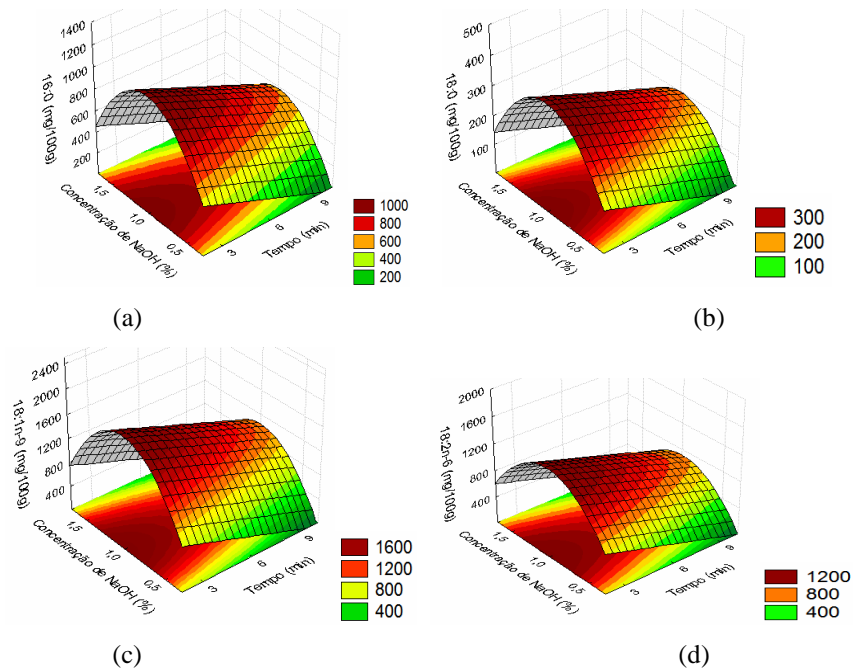
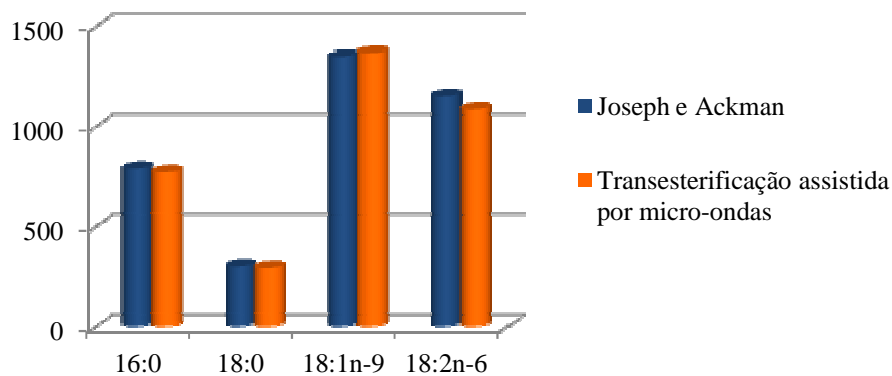


Figura 2 – Ácidos graxos majoritários do pernil suíno (mg/100g) obtidos pela esterificação segundo Joseph e Ackman (1992) e pela transesterificação assistida por micro-ondas.



A validação utilizando material de referência certificado de carnes homogêneas (SRM 1546, NIST) ($n=3$ em triplicata) com os valores dos ácidos graxos e Z score são apresentados na tabela 2. Verifica-se que os teores de ácidos graxos encontrados pela transesterificação assistida por micro-ondas encontram-se dentro do intervalo apresentado pelo certificado do material de referência. Os valores de Z obtidos indicam resultados satisfatórios para todos os ácidos graxos avaliados ($|Z| \leq 2$). Pode-se afirmar, portanto, que o método é exato e preciso.

Tabela 2 – Teores de ácidos graxos (mg/100g) do material de referência certificado (SRM 1546, NIST) obtidos através da transesterificação assistida por micro-ondas, valores declarados no certificado do material de referência e Z score.

Ácidos graxos	Transesterificação assistida por micro-ondas	Valor certificado (SRM 1546, NIST)	Z score
10:0	21,06 ± 1,56	21,11 ± 3,95	-0,01
12:0	13,61 ± 0,97	16,41 ± 3,45	-0,81
14:0	300,00 ± 19,98	312,34 ± 23,45	-0,52
16:0	5647,82 ± 586,44	5629,62 ± 481,48	0,03
18:0	2566,77 ± 247,85	2679,01 ± 358,02	-0,31
20:0	31,65 ± 0,68	38,88 ± 7,77	-0,93
16:1n-7	799,75 ± 59,80	843,20 ± 81,48	-0,53
18:1n-9	10050,12 ± 505,18	10123,45 ± 1185,18	-0,06
18:2n-6	2179,83 ± 33,42	2419,75 ± 246,91	-0,97
18:3n-3	189,60 ± 4,30	174,07 ± 43,20	0,35
20:1n-9	168,99 ± 19,34	192,59 ± 28,39	-0,83
20:4n-6	41,77 ± 5,12	69,13 ± 30,86	-0,88

4 CONCLUSÃO

O processo de transesterificação assistida por micro-ondas requer apenas 5 minutos à temperatura mais branda (60 °C) que o método convencional não necessitando do BF₃, composto altamente tóxico, com tempo de vida limitado e de alto custo.

As micro-ondas provam ser adequadas para a transesterificação com metanol, permitindo conversão em ésteres de ácidos graxos com maior economia e em curto tempo. O procedimento representa um método limpo, prático, simples, econômico e menos agressivo ao meio ambiente, além de possuir alta eficiência na obtenção dos resultados.

5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela assistência financeira.

6 REFERÊNCIAS

Badiani, A., Stipa, S., Bitossi, F., Gatta, P.P., Vignola, G., & Chizzolini, R. (2002). Lipid composition, retention and oxidation in fresh and completely trimmed beef muscles as affected by common culinary practices. **Meat Science**, 60, 169–186.

Folch, J., Lees, M., & Stanley, S. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **The Journal of Biological Chemistry**, 226, 497-509.

Fulk, W. K., & Shorb, M. S. (1970). Production of an artifact during methanolysis of lipids by boron trifluoride-methanol. **Journal of Lipid Research**, 11, 276-277.

Jeyashoke, N., Krisnangkura, K., & Chen, S. (1998). Microwave induced rapid transmethylation of fatty acids for analysis of food oil. **Journal of Chromatography A**, 818, 133–137.

Joseph, J.D., & Ackman, R.G. (1992). Capillary column gas chromatographic method for analysis of encapsulated fish oils and fish oil ethyl esters: collaborative study. **Journal of AOAC International**, 75, 488-506.

Ledoux, M., Laloux, L., & Wolff, R. L. (2000). Analytical methods for determination of trans-C18 fatty acid isomers in milk fat – a review. **Analisis**, 28, 402-412.

Mazalli, M.R., & Bragagnolo, N. (2007). Validation of two methods for fatty acids analysis in eggs. **Lipids**, 42, 483–490.

Sancho, R.A.S., Bragagnolo, N., Costa, G.G., Mariutti, L.R.B., & De Lima, F.A. (2011). Effect of annatto seed and coriander leaves as natural antioxidants in fish meatballs during frozen storage. **Journal of Food Science**, 76, 838-845.

Zara, R.F., Bonafé, E.G., Martin, C.A., Souza, N.E., Muniz, E.C., & Visentainer, J.V. (2012). Preparation of fame by microwave irradiation using boron trifluoride as a catalyst. **American Journal of Analytical Chemistry**, 3, 288-294.