

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DETERMINAÇÃO DE LIPÍDEOS

LIPÍDEOS

- **IMPORTÂNCIA**

- Transporte de vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) para as células
- Fornecer ácidos graxos essenciais
- Melhorar o sabor e palatabilidade dos alimentos
- Melhorar a textura dos alimentos
- Odores

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

DETERMINAÇÃO DE LIPÍDEOS

Teor de lipídeos em alguns alimentos

ALIMENTO	TEOR (%)
Manteiga e margarina	81
Molhos para salada	40 - 70
Leite fresco	3,7
Leite em pó	27,5
Queijo minas	16
Sorvetes	12
Cereais	3 - 5
Feijões e sementes secas	1,5
Carne	16 - 25
Mortadela	29
Peixes	0,1 - 20
Ovos	12
Chocolate	35
Frutas	0,1 - 1
Abacate	26,4
Azeitonas	21
Vegetais	0,1 - 1,2

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DETERMINAÇÃO DE LIPÍDEOS

- **Insolúveis em água**
- **Solúveis em solventes orgânicos**
 - Éter etílico**
 - Éter de petróleo**
 - Acetona**
 - Clorofórmio**
 - Benzeno**
 - Metanol**
 - Etanol**
 - Butanol**

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DETERMINAÇÃO DE LIPÍDEOS

Solventes apolares

Extraem a fração lipídica neutra

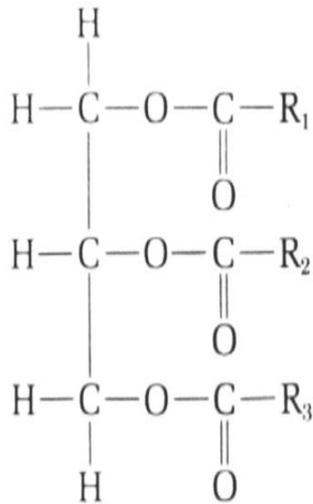
- **Ácidos graxos livres**
- **Mono, di e triacilgliceróis**
- **Fosfolipídeos**
- **Glicolipídeos**
- **Esfingolipídeos**

Extraem parcialmente

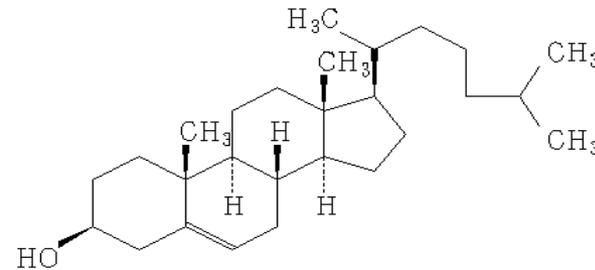
- **Esteróis**
- **Ceras**
- **Pigmentos lipossolúveis**
- **Vitaminas**

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DETERMINAÇÃO DE LIPÍDEOS

R_1, R_2, R_3 – ácidos graxos (saturados ou insaturados)



SDBS-NO= 887
CHOLESTEROL



COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DETERMINAÇÃO DE LIPÍDEOS

MÉTODOS DE ANÁLISE

- Extração direta com solventes**
- Extração com solventes após tratamento com ácido ou álcali**
- Tratamento com mistura de solventes e reagentes ácidos**

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DETERMINAÇÃO DE LIPÍDEOS

MÉTODOS DE ANÁLISE

Extração com solventes

Fatores importantes

- **Polaridade**
- **Eficiência de extração:**
lipídeos ligados a carboidratos e proteínas
umidade da amostra
- **Tempo de extração**
- **Temperatura**
- **Toxicidade**
- **Custo**

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DETERMINAÇÃO DE LIPÍDEOS

EFICIÊNCIA DA EXTRAÇÃO

A- Natureza da amostra

- **Sólidos**
partículas pequenas
- **Amostra deve estar seca**
- **Lipídeos ligam-se a carboidratos e proteínas a alta temperatura**
- **Produtos com alta concentração de carboidratos e proteínas devem ser tratadas com ácido ou álcali**

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DETERMINAÇÃO DE LIPÍDEOS

B- Natureza do solvente

- **Polaridade (poder de dissolução)**

C- Quantidade de solvente utilizada

- **Necessário para a extração (quanto menor , maior a saturação)**

D- Velocidade de refluxo do solvente

- **rápida: extração incompleta (pouca penetração de solvente na amostra)**

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DETERMINAÇÃO DE LIPÍDEOS

SOLVENTES

1. Éter etílico

- **Utilização na forma anidra**
- **Volátil e inflamável**
- **Estável**
- **Eficiente**
- **Ponto de ebulição: 34,6 °C**
- **Explosivo**

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DETERMINAÇÃO DE LIPÍDEOS

SOLVENTES

2. Éter de petróleo

- **Volátil e inflamável**
- **Menor custo**
- **Menos perigoso**
- **Ponto de ebulição: 35,5 a 45 °C**
- **Não absorve água durante a extração**

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DETERMINAÇÃO DE LIPÍDEOS

	Constante dielétrica (20°C)
Água	80,40
Metanol	33,60
Etanol	24,60
Acetona	21,50
Clorofórmio	4,80
Éter dietílico	4,34
Benzeno	2,29
Hexano	1,88
Éter de petróleo	1,84

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DETERMINAÇÃO DE LIPÍDEOS

Extração com solvente a quente

O método é baseado em 3 etapas:

- Extração da gordura da amostra com solvente**
- Eliminação do solvente por evaporação**
- A gordura extraída é quantificada por pesagem**

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DETERMINAÇÃO DE LIPÍDEOS

EQUIPAMENTOS PARA EXTRAÇÃO A QUENTE

A. SOXHLET

- **Extração sólido-líquido intermitente**
- **Amostra em cartucho poroso**
- **Utiliza refluxo constante de solvente**
- **Amostra não fica em contato com solvente muito quente**
- **Solvente em contato com amostra é sempre puro**
- **Maior quantidade de solvente**
- **Processo lento e eficiente**
- **Baixo custo**



SOXHLET AUTOMATIZADO

Primeira etapa

**O cartucho de extração é imerso no solvente em ebulição como no processo de extração contínua
A extração inicial é muito mais rápida**

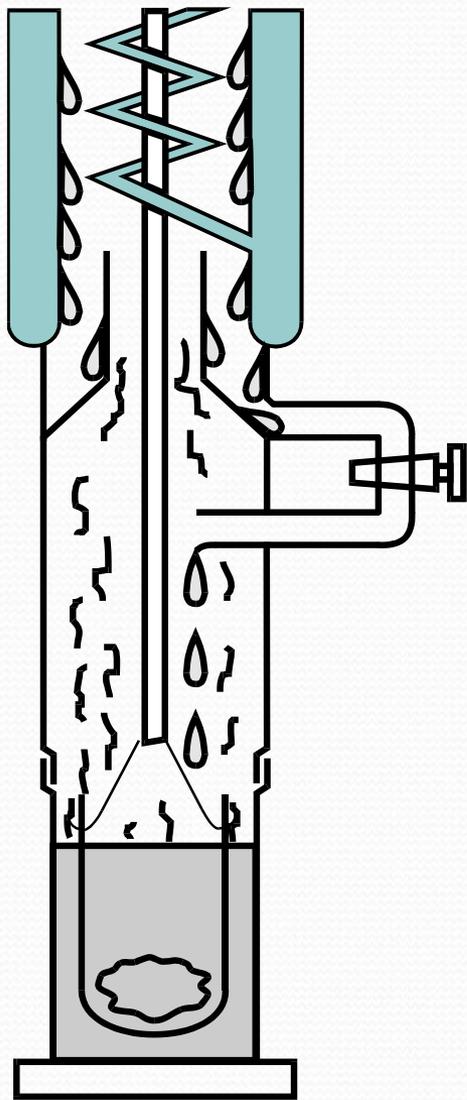
Segunda etapa

**O cartucho é suspenso, não tendo contato com o solvente em ebulição (volta ao sistema convencional)
O nível do solvente em ebulição é diminuído desviando-se porções do condensado
O restante do analito é lavado continuamente com o condensado do solvente**

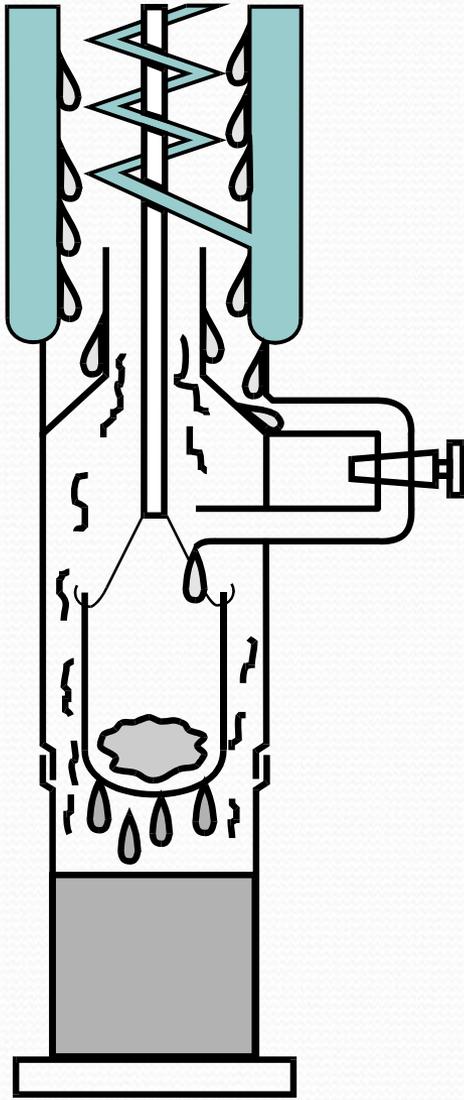
Terceira etapa

Coleta do solvente recuperado

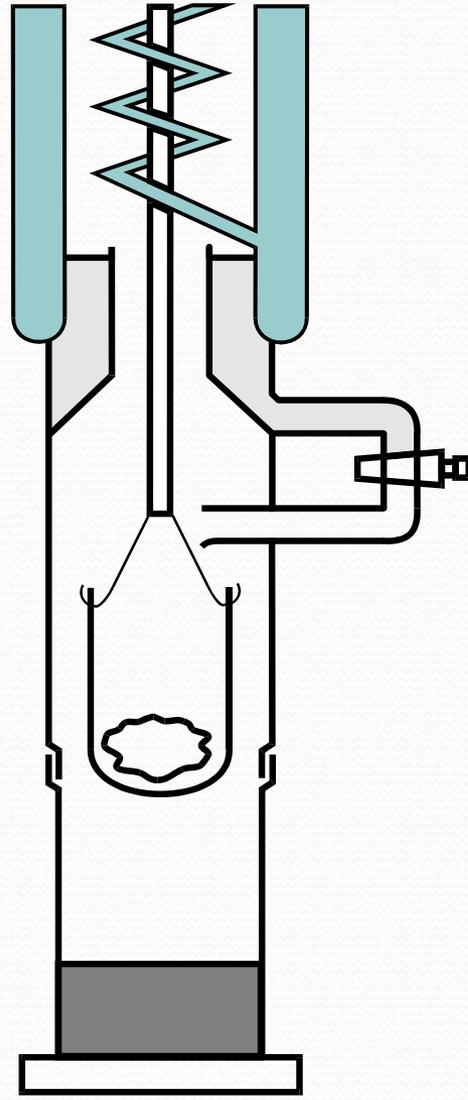
(a)



(b)



(c)

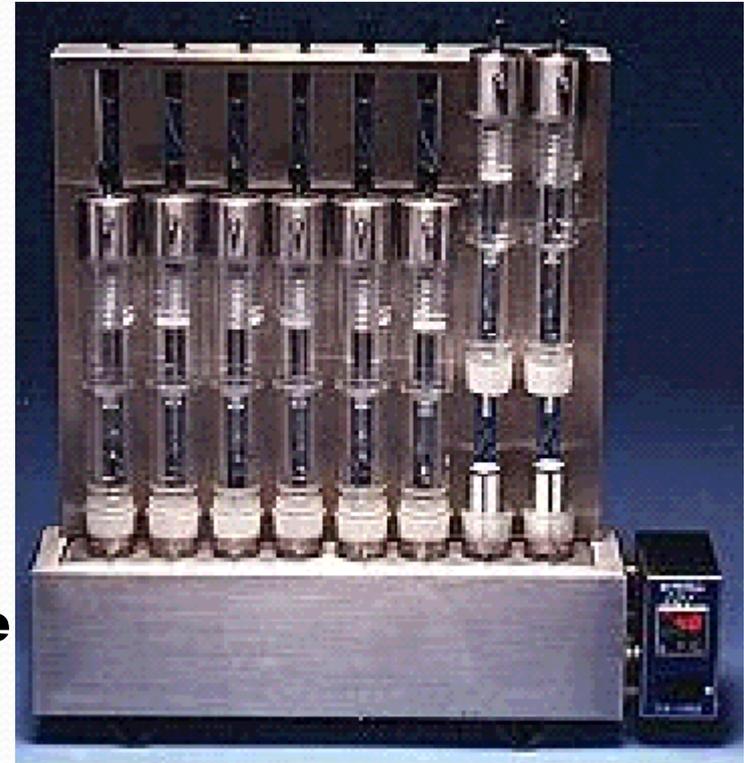


COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

DETERMINAÇÃO DE LIPÍDEOS

B – EXTRAÇÃO CONTÍNUA

- **Utiliza refluxo**
- **Mais rápido**
- **Somente para amostras sólidas**
- **Solvente quente pode degradar a amostra**
- **Menos solvente**
- **Mais rápido – contato permanente do solvente com amostra**



COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DETERMINAÇÃO DE LIPÍDEOS

EXTRAÇÃO COM MISTURA DE SOLVENTES A FRIO MÉTODO BLIGH-DYER

Solventes empregados

Clorofórmio

Metanol

Água

- **Amostra é misturada com metanol e clorofórmio**
- **Adição de mais clorofórmio e água**

Fase clorofórmio carrega lipídeos

Fase metanol/água carrega substâncias não lipídicas

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

DETERMINAÇÃO DE LIPÍDEOS

EXTRAÇÃO COM MISTURA DE SOLVENTES A FRIO

Fase de clorofórmio com a gordura é isolada
Evaporação do clorofórmio
Pesagem do extrato etéreo

Vantagens

- **Extração de todas as classes de lipídeos**
- **Extratos obtidos podem ser utilizados para análises de índice de peróxidos, ácidos graxos livres, vitaminas lipossolúveis e composição de ácidos graxos e esteróis**
- **Utilizado em amostras com baixo e alto teor de umidade**
- **Não emprega equipamentos sofisticados**

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DETERMINAÇÃO DE LIPÍDEOS

EXTRAÇÃO COM MISTURA DE SOLVENTES A FRIO MÉTODO FOLCK (1957)

Solventes empregados

Clorofórmio
Metanol

- Amostra é misturada com metanol e clorofórmio**

Fase clorofórmio carrega lipídeos

Fase metanol carrega substâncias (polares)

EXTRAÇÃO DE GORDURA LIGADA A PROTEÍNAS E CARBOIDRATOS

HIDRÓLISE ÁCIDA

- **Separação de lipídeos de compostos polares como proteínas e carboidratos**
- **Produtos lácteos, farináceos**
- **Utilização de ácido clorídrico, etanol e hexametafosfato**

EXTRAÇÃO DE GORDURA LIGADA A PROTEÍNAS E CARBOIDRATOS

Processo Gerber

A gordura no leite está presente em forma de emulsão de óleo em água cercada de um filme de proteína

**Ácido Sulfúrico com Densidade: 1,82 g/mL
Digestão de proteínas e carboidratos**

Álcool Isoamílico

Facilita a separação da gordura

Redução de carbonização do HSO_4 sobre a gordura

EXTRAÇÃO DE GORDURA LIGADA A PROTEÍNAS E CARBOIDRATOS

Gordura é separada da fase aquosa

**Centrifugação em butirômetro calibrado em escala
volumétrica**

Leitura volumétrica a 71 °C

Não determina fosfolipídeos

**Vários tipos de buriômetro:
Creme de leite
queijos**

EXTRAÇÃO DE GORDURA LIGADA A PROTEÍNAS E CARBOIDRATOS

Processo de Babcock

Ácido sulfúrico

Hidrólise da proteína

Adição de água quente

Não determina fosfolipídeos

Manteiga: 24% fosfolipídeos

utilizar método Soxhlet ou extração contínua

EXTRAÇÃO DE GORDURA LIGADA A PROTEÍNAS E CARBOIDRATOS

MÉTODO DE MOJONNIER

Utilizado para gordura de leite (hidrólise alcalina)

a amostra é tratada com hidróxido de amônia e álcool para hidrolisar a ligação proteína-gordura.

O álcool precipita a proteína que é dissolvida na amônia e a gordura separada pode ser extraída

Solvente extrator: mistura de éter etílico e éter petróleo

Utilização de frasco mojonnier

Extrato é seco e pesado

CARACTERIZAÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS

ÍNDICE DE IODO

Medida do grau de insaturação de óleos e gorduras e é definido como a quantidade de halogênios em gramas

Expresso em iodo absorvidos por 100 g de amostra

Utilizado para acompanhamento de processos de hidrogenação

Iodo e outros halogênios se adicionam à dupla ligação da cadeia insaturada dos ácidos graxos

CARACTERIZAÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS ÍNDICE DE IODO

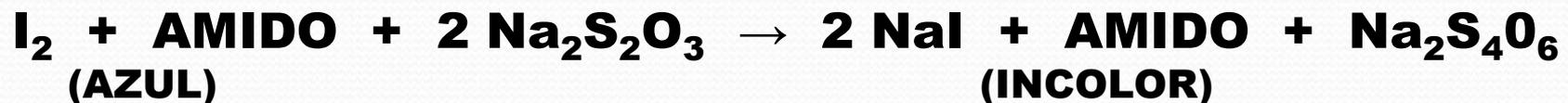
Quanto maior a insaturação, maior o índice de iodo

Quanto maior o índice de iodo, maior a possibilidade de rancidez por oxidação



ICl é determinado como iodo, utilizando uma solução de tiosulfato de sódio padronizada (agente redutor forte)

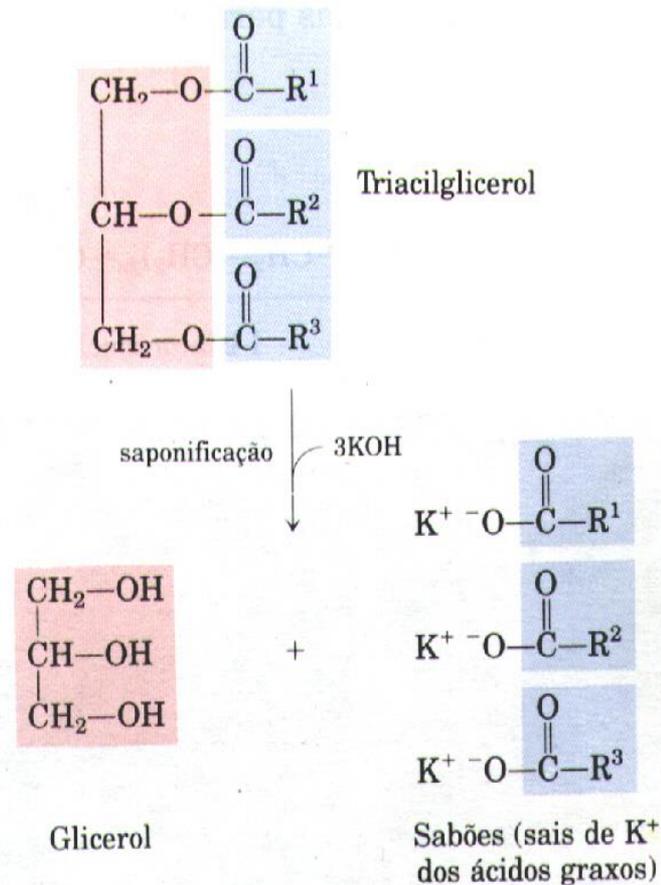
Para visualização do ponto final utiliza-se solução de amido



CARACTERIZAÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS

ÍNDICE DE SAPONIFICAÇÃO

SAPONIFICAÇÃO - formação de sabões (sais alcalinos de ácidos graxos) a partir dos triacilglicerois quando hidrolisados em meio alcalino por aquecimento



CARACTERIZAÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS

ÍNDICE DE SAPONIFICAÇÃO

Número de miligramas de KOH necessário para neutralizar os ácidos graxos resultantes da hidrólise completa de 1 g de amostra

Indicador da quantidade relativa de ácidos graxos de alta e baixa massa molecular

Ácidos graxos de menor massa molecular requerem mais álcalis para a saponificação

CARACTERIZAÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS

ÍNDICE DE SAPONIFICAÇÃO

Não identifica óleos

Óleos diferentes podem possuir índices de saponificação semelhantes

Aplicação:

verificação de massa molecular média

adulteração com óleos de índices de saponificação bem diferentes

Procedimento

Aquecimento da amostra em banho-maria em solução de KOH alcoólico sob refluxo

Titulação com HCl padronizado

CARACTERIZAÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS

Caracterização da rancidez

Rancidez hidrolítica

Rancidez oxidativa

Rancidez hidrolítica

Hidrólise da ligação éster por lipase e umidade

Reação é acelerada por luz e calor

Formação de ácidos graxos livres

CARACTERIZAÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS RANCIDEZ HIDROLÍTICA

Índice de acidez

Número de miligramas de KOH requerido para neutralizar os ácidos graxos livres em 1 g de amostra

Procedimento:

**Dissolução da gordura em solvente misto e neutralizado
Titulação com NaOH padronizado**

CARACTERIZAÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS

RANCIDEZ OXIDATIVA

Destruição de vitaminas lipossolúveis

Destruição de ácidos graxos essenciais

Formação de sub-produtos com sabor e odor estranhos

Índice de peróxidos

Mede o estado de oxidação de óleos e gorduras

**Peróxidos: primeiros compostos formados no processo
de oxidação**

CARACTERIZAÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS

Índice de peróxidos

Definido como número de miliequivalentes (mEq) de peróxidos por quilograma de gordura.

Determina peróxidos e hidroperóxidos

Procedimento

Dissolução da amostra em ácido acético glacial – isooctano

Adição de excesso de KI (iodeto de potássio)

I^- é oxidado a I_2 pelos peróxidos

I_2 é titulado com tiosulfato padronizado (indicador: amido)

CARACTERIZAÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS RANCIDEZ OXIDATIVA

Índice de TBA

Produtos da oxidação de gorduras que reagem com ácido 2-tiobarbitúrico em meio ácido resultando em produtos de coloração Vermelha

(2 moléculas de TBA e 1 de malonaldeído → produto de degradação secundária da autooxidação de lipídios).

CARACTERIZAÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS

RANCIDEZ OXIDATIVA

Procedimento

Na amostra adiciona-se:

- Reagente TBA (ácido 2-tiobarbitúrico dissolvido em NAOH e água), mais**
- Água, HCL, ácido tricloroacético.**
- Conecta ao condensador e destila sob refluxo.**
- Filtra ou centrifuga parte do refluxo**
- Leitura da absorbância em espectrofotômetro.**