

## DERIVATIZAÇÃO E ANÁLISE DE CAPSULAS DE ÔMEGAS INDUSTRIALIZADAS

YOHANA MELANIA LÓPEZ<sup>1</sup>; BRUNA SILVEIRA PACHECO<sup>2</sup>; CAMILA FRANCINE PAES NUNES<sup>2</sup>; CAROLINE TUCHTENHAGEN<sup>2</sup>; ANDRÉS FELIPE GIL<sup>2</sup>; CLAUDIO MARTIN PEREIRA DE PEREIRA<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) - [yohanlopez6@gmail.com](mailto:yohanlopez6@gmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) - [pacheco.sbruna@gmail.com](mailto:pacheco.sbruna@gmail.com)

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) - [claudiochemistry@gmail.com](mailto:claudiochemistry@gmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

A cromatografia gasosa trata-se, de uma técnica indispensável à pesquisa, desenvolvimento, ou simples controle de qualidade, em uma grande variedade de áreas da ciência, como a química, medicina, a extração e prospecção de petróleo, o monitoramento de pesticidas, agrotóxicos e bioprospecção (DAVID *et al*, 1997).

A cromatografia gasosa tem sido estudada também para analisar diferentes tipos de moléculas presentes nos organismos vivos, por exemplo os lipídeos, especialmente os ácidos graxos.

Em especial, o nome “gordura” engloba duas categorias de substâncias, a do glicerol e a dos chamados ácidos graxos, à qual pertencem os ácidos graxos Ômega 3 e 6 (MARTINS *et al*, 2008). Os ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 (AGPI N-3) vem atraindo a atenção de inúmeros pesquisadores pelo seu papel em estimular o metabolismo lipídico e turnover de lipoproteínas (DU *et al*, 2003). Nos últimos anos tem havido grande interesse, por parte da comunidade científica, pelos ácidos graxos poliinsaturados ômega 3, principalmente EPA (eicosapentaenoic acid) e DHA (docosahexaenoic acid), encontrados em peixes e óleos de peixe (ANDRADE *et al*, 2006).

A base desse interesse, pela ingestão dietética de EPA e DHA, vem de estudos populacionais e epidemiológicos, os quais mostraram que o consumo de peixe está associado a diminuição dos coeficientes de morbimortalidade pelas doenças cardiovasculares (SIMOPOULOS, 2002). Além disso, a maior ingestão de AGPI N-3 vem acompanhada de aumento da concentração desses ácidos graxos no plasma, o que, por sua vez, pode ser importante para a dinâmica imunológica do indivíduo (KÖNIG *et al*, 1997) e na proteção contra eventos cardiovasculares. O objeto do estudo é a avaliação de ômegas presentes em capsulas industrializadas. O presente trabalho é derivado da disciplina de Lipidômica ministrada no Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção.

### 2. METODOLOGIA

As capsulas de ômegas e óleo de peixe foram adquiridas em farmácias da cidade de Pelotas. As amostras são oriundas de diferentes fontes de  $\omega$ -3: óleo de peixe (amostra 4) 1000mg com um percentagem de DHA de 15% e EPA de 20%. Amostra derivada da manipulação,  $\omega$ -3 de 500mg (amostra 5, óleo de peixe) e a

amostra oriundo de fígado de bacalhau, também encapsulada em farmácia de manipulação (amostra 6),  $\omega$ -3 de 250mg. As derivatizações das capsulas de lipídeos foram realizadas pelo método BLIGH & DYER (1959) modificado, onde em um frasco foram pesado aproximadamente 0,05 g de óleo e adicionados 4 mL da solução metanólica NaOH (5M) a solução foi colocada sob refluxo por 5min a 100 ° C, em seguida adiciona-se 5 mL de Trifluoreto de boro (BF<sub>3</sub>) e deixa por mais 2 min sob refluxo.

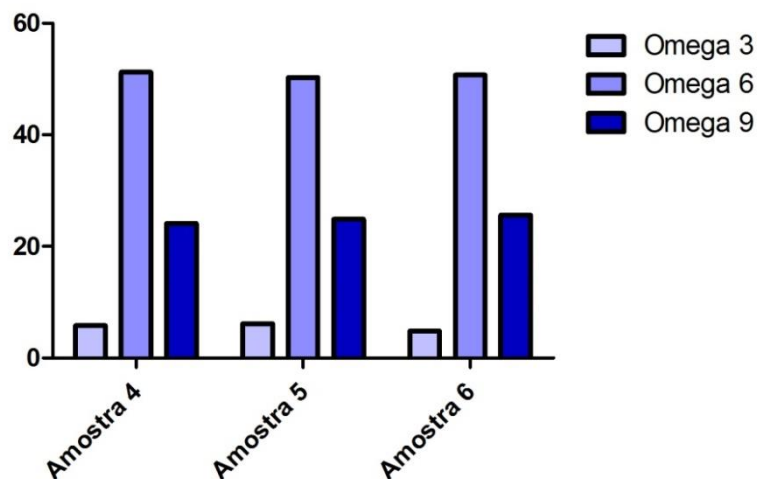
Após, as derivatizações os ésteres foram extraídos com 15 mL de hexano por três vezes e 20 mL solução saturada de NaCl. A fase aquosa foi separada e descartada, sendo a fase orgânica seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro. O solvente foi evaporado sob vácuo e os ésteres obtidos foram pesados.

Os ésteres oriundos das derivatizações foram analisados semi-quantitativamente e qualitativamente em Cromatógrafo a Gás marca Shimadzu, modelo GC-2010, utilizando o método por comparação ao padrão FAME Mix 37 (Supelco) e área normatizada pelo programa GC Solution. O GC/FID está equipado com injetor split/splitless, detector por ionização de chama (DIC) e coluna capilar RTX- Wax (30 m x 0,32 mm x 0,25  $\mu$ m).

Foram utilizadas as seguintes condições: gás carreador H<sub>2</sub>, vazão de 1.2 mL/min, split 1:50. Programação do forno: temperatura inicial 100°C permanecendo nesta temperatura por 0,5 min com rampa de aquecimento em 7°C/min até 175°C, após com aquecimento de 5°C/min até 190°C mantendo-se nesta temperatura por 1min indo após a 1,20°C/min até 230°C ficando estável nesta temperatura por 11,45 min.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os percentuais de ácidos graxos poli-insaturados extraídos ficaram em proporção iguais entre as diferentes amostras de ômegas, sendo predominante em todas as amostras  $\omega$ -6, numa proporção de aproximadamente 50%. Depois se destaca  $\omega$ -9, com aproximadamente 27%. O  $\omega$ -3, porém o mais importante deles na alimentação humana se encontra em concentrações muito baixas, próximas de 5%, como pode ser observadas no Gráfico 1.



O gráfico 1: % de ômegas encontrados nas capsulas de óleo de peixe e nas capsulas de ômegas.

De acordo com os resultados obtidos os porcentagens mais altos com respeito às três amostras foram o ácido linoleico pertencente ao  $\omega$ -6 com valores para A4 de 50,474 %, para A5 de 49,681 %, e para A6 de 50,120 %, seguido do ácido oleico pertencente aos  $\omega$ -9 com porcentagens para a A4 de 24,126 %, para A5 de 24,934 %, e para A6 de 25,572 %. Na análise do ácido alfa-linoleico,  $\omega$ -6 variou entre 4,855 % a 5,254 %, entre as amostras A4, A5 e A6.

Os ácidos graxos  $\omega$ -3 o ácido eicosapentaenoico (EPA) e o ácido docosaexaenoico (DHA) e dos  $\omega$ -6 o ácido linoleico e o ácido araquidônico podem formar parte dos triacilgliceróis que são consumidos através da dieta (HERRERA, *et al* 2006). São encontrados em concentrações mais expressivas em lipídios de peixes e animais marinhos, especialmente aqueles procedentes de regiões frias, e são considerados de grande importância no metabolismo, por exercerem funções biológicas específicas (VISENTAINER, *et al* 2000).

Através do EPA nosso corpo pode sintetizar substâncias eicosanoides, como prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos. Sendo todos os eicosanoides vitais para uma correta função de nosso sistema imunitário e interferem nos sistemas de inflamação e coagulação sanguínea. Por outro lado o ácido graxo DHA é o maior constituinte da porção fosfolipídica das células receptoras e está presente na retina, no cérebro humano e em diversos tecidos corporais (HERRERA, *et al* 2006).

Tabela 1. Porcentagens dos tipos de ácidos graxos nos  $\omega$ -3,  $\omega$ -6,  $\omega$ -9

<b>Ácidos graxos <math>\omega</math>-3</b>	<b>A4</b>	<b>A5</b>	<b>A6</b>
Acido alfa-linoleico C18:3n3	4,931 %	5,254 %	4,855 %
Acido eicosapentaenoico C20:5n3	0,312 %	0,344 %	0%
Acido docosaexaenoico C22:6n3	0,540 %	0,657 %	0%
<b>Ácidos graxos <math>\omega</math>-6</b>			
Acido linoleico C18:2n6c	50,474 %	49,681 %	50,120 %
Acido gama linoleico C18:3n6	0,763 %	0,601 %	0,650 %
<b>Ácidos graxos <math>\omega</math>-9</b>			
Acido oleico C18:1n9c	24,126 %	24,934 %	25,572 %
<b>Outros ácidos graxos</b>			
Acido palmítico C16:0	11,474 %	11,487 %	11,344 %
Acido esteárico C18:0	4,964 %	4,624 %	4,831 %
Ácido eicosanóico C20:0	0,608 %	0,542 %	0,703 %
Acido beénico C22:0	0,547 %	0,541 %	0,516 %
Acido lignocérico C24:0	0,309 %	0,317 %	0,309 %

#### 4. CONCLUSÕES

A análise do perfil de ácidos graxos via Cromatografia Gasosa (CG), mostrou por exemplo significativos valores para o ácido linoleico,  $\omega$ -6 com valores em de 50,474 % para amostra derivada de material encapsulada em indústria farmacêutica (Amostra 4, A4); para a amostra derivada do óleo de peixe encapsulado em farmácia de manipulação (Amostra 5, A5) verificou-se 49,681% de  $\omega$ -6; e para a amostra derivada do fígado de bacalhau (Amostra 6, A6) atingiu

50,120 % de  $\omega$ -6. Na análise do ácido oleico pertencente aos  $\omega$ -9 verificou-se porcentagens para a A4 de 24,126 %, para A5 de 24,934 %, e para A6 de 25,572 %. Na análise do ácido alfa-linoleico,  $\omega$ -3, as concentrações do ácido graxo entre as amostras variaram entre 4,855 e 5,254 %, não sendo significativas.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, M, P. RIBEIRO, G, B. TAVARES, G, M. Suplementação de ácidos graxos ômega 3 em atletas de competição: impacto nos mediadores bioquímicos relacionados com o metabolismo lipídico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v.12, n.6, p.339-344, 2006.

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

DAVID, F. KLEE, M, S. SANDRA, P. Large-Volume Cool On-Column Injection Using the Agilent Solvent Vapor Exit Kit. **Agilent Technologies**, v.16, p.1-5, 1999.

DU, C. SATO, A. WATANABE, S. WU, C, Z. IKEMOTO, A. ANDO, K. Cholesterol synthesis in mice is suppressed but lipofuscin formation is not affected by long-term feeding of n-3 fatty acid-enriched oils compared with lard and n-6 fatty acid-enriched oils. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v.26, n.6, p.766-70, 2003.

HERRERA, C, M. VEGA Y LEON, S. GUTIERREZ, T, R. GARCÍA, F, B. DÍAZ, G,G. Los ácidos grasos omega-3 y omega-6: nutrición, bioquímica y salud. **Revista de educación bioquímica REB** 25(3): 72-79, 2006

KÖNIG, D. BERG, A, C. WEINSTOCK, C. KEUL, J. NORTHOFF, H. Essential fatty acids, immune function and exercise. **Exercise immunology review**, v.3, p.1-31, 1997.

MARTINS, B, M. SUAIDEN, S, A. PIOTTO, F, R. BARBOSA, M. Propriedades dos ácidos graxos poliinsaturados – Omega 3 obtidos de óleo de peixe e óleo de linhaça. **Revista do Instituto de Ciências da Saúde**, v.26, n.2, p.153-156, 2008.

SIMOPOULOS, A, P. The importance of ratio omega-6/omega-3 essential fatty acids. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v.56, n.8, p.365-79, 2002.

VISENTAINER, J, V. CARVALHO, P. IKEGAKI, M, P. Concentração de ácido eicosapentaenóico (EPA) e ácido docosahexaenóico (DHA) em peixes marinhos da costa brasileira. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** [online]. 2000, vol.20, n.1, pp. 90-93. ISSN 1678-