
Método alternativo para determinação de extrato etéreo em tecido biológico

Alternative method for determining ether extract in biological tissue

Recebido: 01/10/2024 | Aceito: 30/10/2024 | Publicado: 02/11/2024

Tays Raniellen Miranda Feitosa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7648-8397>
Universidade Federal do Norte do Tocantins, Brasil
E-mail: tays.feitosa@ufnt.edu.br

Josimar Santos de Almeida

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1379-6055>
Universidade Federal do Norte do Tocantins, Brasil
E-mail: josimar.almeida@ufnt.edu.br

Adriano Vieira

ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-7488-7499>
Universidade Federal do Norte do Tocantins, Brasil
E-mail: adriano.vieira@ufnt.edu.br

RESUMO

Objetivou-se elaborar um método alternativo de extração da fração lipídica de alimentos utilizados na nutrição animal, bem como avaliar sua eficiência na economia de solvente. 2 alimentos (soja grão e farelo de soja) foram analisados em diferentes métodos de extração etérea, sendo o método controle o da Ancom[®], e os demais uma adaptação deste utilizando-se extrator tipo Soxhlet em 1, 2, 4 e 6 horas de lavagem com solvente. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com arranjo fatorial 2 x 5 e medidas repetidas no tempo, perfazendo 10 tratamentos com 6 repetições. Os percentuais de extrato etéreo (EE) do farelo de soja foram inferiores aos de soja grão em todos os métodos de extração etérea. Os teores de EE da soja grão no método alternativo com 4 e 6 horas de lavagem foram semelhantes ao método controle, enquanto os com 1 e 2 horas de lavagem demonstraram-se inferiores, denotando-se efeito de interação. A economia de solvente no método ANCOM foi de 73% e a do método alternativo foi de 90%. O método alternativo com 4 horas de lavagem pode substituir o da Ancom[®] na determinação de extrato etéreo de alimentos, e é mais eficiente na economia de solvente em relação ao método tradicional.

Palavras-chave: Alimentos; Análise; Lipídeos; Solvente.

ABSTRACT

The objective of this study was to develop an alternative method for extracting the lipid fraction of foods used in animal nutrition, as well as to evaluate its efficiency in saving solvent. Two foods (soybean grain and soybean meal) were analyzed using different ether extraction methods, the control method being the Ancom® method, and the others an adaptation of this method using a Soxhlet type extractor in 1, 2, 4 and 6 hours of solvent washing. A completely randomized design with a 2 x 5 factorial arrangement and repeated measures over time was used, totaling 10 treatments with 6 replicates. The percentages of ether extract (EE) of soybean meal were lower than those of soybean grain in all ether extraction methods. The EE contents of soybean grain in the alternative method with 4 and 6 hours of washing were similar to the control method, while those with 1 and 2 hours of washing were lower, indicating an interaction effect. The solvent savings in the ANCOM method were 73% and that of the alternative method was 90%. The alternative method with 4 hours of washing can replace the Ancom® method in the determination of ether extract of foods and is more efficient in saving solvent compared to the traditional method.

Keywords: Food; Analysis; Lipids; Solvent.

INTRODUÇÃO

O conhecimento do valor nutritivo dos alimentos por meio da análise química é de grande importância na nutrição animal, pois, a compreensão das características nutricionais possibilita o ajuste, especialmente, da energia da dieta de acordo com a exigência do organismo dos animais (OLIVEIRA CAETANO; FONSECA; FIGUEIREDO, 2020). Segundo Kozloski (2017), os lipídeos são considerados a classe de alimentos mais incompreendida. Isso se dá devido a muitos acreditarem que estes são compostos cuja única função é fornecer energia, além disso, acredita-se que não há diferença entre os ácidos graxos, não havendo contribuição individual para eles (JENKINS, 2012).

O primeiro aparelho desenvolvido para extração lipídica em tecido biológico foi desenvolvido por Franz von Soxhlet em 1879, que observou a importância do grau de trituração da amostra em pequenas partículas, assim como a duração e eficácia do processo (SOXHLET, 1879). No processo de extração lipídica, levam-se em conta três fases fundamentais: a penetração do solvente no tecido; a formação de uma miscela intracelular e, a difusão do extrato na miscela externa (SCHNEIDER; SCHUETTE, 1980).

A determinação de lipídeos é realizada com a utilização de solventes orgânicos como o éter de petróleo, que consiste na lavagem de amostras de alimento com esse solvente, para que haja a remoção da fração lipídica, ficando na amostra componentes não lipídicos como o glicerol, água, vitaminas e pigmentos. A fração lipídica removida pelo solvente é chamada de extrato etéreo (KOZLOSKI, 2017).

O método de análise de extrato etéreo (EE) tradicionalmente utilizado é o da Ancom[®], no qual se utiliza um equipamento semiautomático (ANKOM XT10 ou ANKOM XT15, ANKOM Technology Corporation, Fairport, NY, EUA). Tal método é considerado oneroso, pois exige o acondicionamento das amostras em sacos de filtro específicos (ANKOM XT4) que possuem custo relativamente elevado. Além disso, o aparelho comporta uma quantidade limite de 12 sacos, o que reduz a velocidade da análise, a depender do número de amostras.

Diante do exposto, considera-se a necessidade de desenvolvimento de técnicas alternativas ao método Ancom[®], visando a redução dos custos e o tempo para realização da análise, e assim, contribuir com o avanço de novas tecnologias para análises laboratoriais. Portanto, objetivou-se elaborar um método alternativo de extração da fração

lipídica de alimentos utilizados na nutrição animal, bem como avaliar sua eficiência na economia de solvente.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no complexo laboratorial de nutrição animal, pertencente ao Programa de Pós-Graduação Integrado em Zootecnia nos Trópicos da Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), Araguaína - TO. Para a composição dos tratamentos foram utilizados 2 alimentos, um com elevado e outro com baixo teor de lipídeos (soja grão e farelo de soja, respectivamente), que foram analisados em diferentes métodos de extração etérica, sendo eles o método controle, tradicional da Ancom[®] (ANCOM) e o método alternativo, que consistiu na adaptação deste utilizando-se extrator tipo Soxhlet com 4 diferentes tempos de lavagem com solvente, quais sejam 1 (MALT1), 2 (MALT2), 4 (MALT4) e 6 horas (MALT6).

As amostras de alimentos foram previamente trituradas em moinho de facas tipo willey e peneira de 1 mm. Todas as análises foram realizadas no mesmo ambiente com temperatura controlada em torno de 22°C (Silva e Queiroz, 2002; DETMANN et al., 2012). Para as análises feitas no método ANCOM foi utilizado o aparelho ANCOM-XT10, seguindo a metodologia descrita pelo fabricante para determinação de EE, a qual determina o uso de sacos específicos. Foram utilizados 4 sacos, sendo 2 para soja grão e 2 para farelo de soja, que receberam aproximadamente 0,7g de amostra, cada. No aparelho, a lavagem com éter de petróleo foi realizada durante um período de uma hora.

Para a determinação de extrato etéreo via método alternativo, a metodologia Ancom[®] foi adaptada para extratores tipo Soxhlet. Foram confeccionados cartuchos de papel filtro qualitativo cortados em dimensão de 7 x 7 cm, que previamente foram identificados para receberem aproximadamente 0,7g de amostras de alimentos, obtendo-se o peso 1 (P1). Em seguida, os cartuchos foram dobrados e grampeados nas bordas com grampo de metal. O peso do grampo foi registrado para ser descontado posteriormente do peso final. Os cartuchos com as amostras foram levados para estufa de 105°C por 2 h, colocados em dessecador a vácuo por 30 minutos (DETMANN et al., 2012), e pesados para obtenção do peso 2 (P2).

Foram utilizados 4 conjuntos de extratores Soxhlet com capacidade de 250ml cada, correspondentes aos 4 tempos de lavagem. Cada extrator recebeu 8 cartuchos com 4 amostras de soja grão e 4 amostras de farelo de soja, totalizando 32 cartuchos. Foram

adicionados 225mL de éter de petróleo nos balões volumétricos, e em seguida os extratores foram acoplados em chapas de aquecimento com temperatura controlada para uma velocidade de condensação de 5 a 6 gotas seg^{-1} (SILVA; QUEIROZ, 2005; DETMANN et al., 2012). A circulação de água era feita com bomba submersa, cuja vazão era de 300 l/h com a água numa temperatura entre 15 a 20 °C, em ciclo fechado.

Após o término de cada tempo de lavagem, os cartuchos foram retirados dos extratores e levados para a estufa a 105°C por 1 hora e colocados em dessecador a vácuo por 30 minutos para ser registrado o peso 3 (P3). A quantidade final de EE de cada amostra foi obtida pela razão: $(P2 - [\text{peso do grampo} + \text{peso do cartucho}] - P3 - [\text{peso do grampo} + \text{peso do cartucho}]) / P1$. Foi realizada análise de recuperação de éter de petróleo para que fossem obtidos os coeficientes de recuperação de cada método.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com arranjo fatorial 2 x 5 e medidas repetidas no tempo. Os fatores consistiram nos 2 alimentos utilizados e os 5 métodos de extração, sendo 10 tratamentos com 6 repetições, totalizando 60 unidades experimentais. Os dados foram submetidos aos testes de normalidade W de Shapiro e Wilk (1965) e de homocedasticidade de variâncias dos tratamentos (LEVENE, 1960), e após aceitas as pressuposições, foram submetidos a análise estatística por meio do programa SAS (2005). As médias foram testadas pelo teste t-student com 5% de probabilidade de erro tipo I.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve efeito dos alimentos sobre os teores de EE ($P < 0,05$) (Tabela 1). Os percentuais de extrato etéreo do farelo de soja foram inferiores aos de soja grão em todos os métodos de extração da fração lipídica, o que ocorreu de forma esperada, visto que o farelo de soja é um coproduto proveniente de um processamento pelo qual é realizada a retirada a fração lipídica do grão para a produção de óleo vegetal, tendo este baixo teor de EE e alto teor de proteína bruta (VALADARES FILHO et al, 2015).

Foi detectado efeito dos métodos de extração de lipídeos sobre o teor de EE no alimento soja grão ($P < 0,05$). Os percentuais de EE no método alternativo com 4 e 6 horas de lavagem foram semelhantes ao método controle, enquanto os métodos MALT1 e MALT2 demonstraram-se inferiores ao ANCOM. Esse resultado demonstra que são necessárias o mínimo de 4 horas de lavagem no extrator Soxhlet para que haja extração

total da fração lipídica do alimento. Assim, o tratamento MALT4 mostrou-se mais eficiente para substituir o método tradicional.

Quando foi analisado o farelo de soja, não foram observadas diferenças nos teores de EE entre os tratamentos ($P \geq 0,05$), o que pode ter ocorrido em função deste alimento apresentar baixas quantidades de lipídeos em relação à soja grão. Houve efeito de interação entre os fatores alimento e método de extração de lipídeos ($P < 0,05$), onde quando se utilizou soja grão como fonte lipídica houve diferença nos teores de EE entre os métodos de extração de lipídeos utilizadas.

Tabela 1. Percentual de extrato etéreo do farelo de soja e soja grão em diferentes métodos e tempos de extração da fração lipídica.

Alim.	Método					Médias	Valor de P			
	ANCOM	MALT1	MALT2	MALT4	MALT6		Alim.	Método	Alim. x Método	CV
FS	2,721Ba	3,096Ba	3,195Ba	3,303Ba	3,456Ba	3,154				
SG	21,437Aa	19,146Ab	19,543Ab	21,368Aa	21,644Aa	20,628	<0,001	<0,001	<0,001	7,1
Médias	12,079	11,121	11,369	12,336	12,550	11,891				

Alim. = Alimento; Método = Método de extração da fração lipídica; FS = Farelo de soja; SG = Soja grão. Médias seguidas por letras distintas maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas diferem a $P > 0,05$ pelo teste de t-student.

Quanto a eficiência de recuperação de solvente, observou-se que no método ANCOM a recuperação de éter de petróleo foi de 73%. Já no método alternativo houve recuperação de 90% do solvente. A recuperação de reagente é importante, pois nas análises de EE o éter de petróleo pode ser reutilizado até 3 vezes, o que ocorre, pois, devido a constante evaporação e condensação do reagente, o mesmo altera sua densidade molecular e com o tempo torna-se menos eficiente para a extração lipídica. Tal resultado demonstra que o método alternativo é mais eficiente em economia de reagente, quando comparado ao método tradicional.

CONCLUSÃO

O método alternativo com 4 horas de lavagem pode substituir o método da Ancom[®] na determinação de extrato etéreo de alimentos, e é mais eficiente na economia de solvente em relação ao método tradicional.

REFERÊNCIAS

- DETMANN, E; M., VALADARES FILHO, S. C.; QUEIROZ, A. C.; BERCHIELLI, T. T.; SALIBA, E. O. S.; AZEVEDO, J. A. G. **Métodos para análise de alimentos - INCT**. Ciência Animal Suprema. Visconde do Rio Branco, MG, 2012, p. 214.
- FIRESTONE, D. (Ed.). **Official methods and recommended practices of the AOCS**. 6th. ed. 3rd print. Urbana, Ill.: AOCS, 2009.
- JENKINS, T.C. (2012). Rumen transformation of lipids. Webinar The Fatty Acid Forum in Virtus Nutrition.
- KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminantes**. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 3ª ed, 2017. 290p.
- LEVENE, H. Robust tests for equality of variances. In: I Olkin (Eds), **Contributions to Probability and Statistics**; Essays in Honor of Harold Hotelling (pp. 278–292), Stanford University Press, Redwood City, CA. 1960.
- OLIVEIRA CAETANO, G. A.; FONSECA, A. A.; FIGUEIREDO, C. B. Teor e composição de lipídeos como ferramenta de gestão na nutrição de bovinos. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p. e334974037-e334974037, 2020. Doi: <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i7.4037>
- SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality. **Biometrika**, v. 52, n. 3/4, p. 591-609. 1965.
- VALADARES FILHO, S. C.; MACHADO, P. A. S.; CHIZZOTTI, M.L.; AMARAL, H.F.; FURTADO, T. CQBAL 3.0: **Tabelas Brasileiras de Composição de Alimentos para Ruminantes**. Viçosa, MG: Editora UVF, 2015, 389-395p.
- SAS INSTITUTE Inc. SAS/STAT. **User's guide, version 9.1**. Cary: SAS Institute, 2005.
- SCHNEIDER, F. H.; SCHUETTE, U. Fettwissenschaft. **Fette Seifen Anstrichmittel**, v. 80, n. 1, p. 16-23, 1980.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análises de alimentos: Métodos químicos e biológicos**. 3ª ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2005. 235p.
- SOXHLET, F. The weight analytic determination of milk fat. **Polytechnisches Journal**, v. 232, p. 461-465, 1879.