

CENTRO UNIVERSITÁRIO SAGRADO CORAÇÃO – UNISAGRADO

JORDANNA CRUZEIRO

COMPARAÇÃO DE DIFERENTES MÉTODOS ANALÍTICOS PARA
QUANTIFICAÇÃO DE LIPÍDIOS NO CREME DE RICOTA

BAURU

2022

JORDANNA CRUZEIRO

COMPARAÇÃO DE DIFERENTES MÉTODOS ANALÍTICOS PARA
QUANTIFICAÇÃO DE LIPÍDIOS NO CREME DE RICOTA

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como parte dos requisitos
para obtenção do título de bacharel em
Biomedicina - Centro Universitário
Sagrado Coração.

Orientadora: Prof.^a Dra. Ana Paula Cerino
Coutinho.

BAURU

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de
acordo com ISBD

C955c	<p>Cruzeiro, Jordanna</p> <p>Comparação de diferentes métodos analíticos para quantificação de lipídios no creme de ricota / Jordanna Cruzeiro. -- 2022. 34f. : il.</p> <p>Orientadora: Prof.^a Dra. Ana Paula Cerino Coutinho Coorientador: Prof. Dr. Richtier Gonçalves da Cruz</p> <p>Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) - Centro Universitário Sagrado Coração - UNISAGRADO - Bauru - SP</p> <p>1. Lipídios. 2. Creme de ricota. 3. Bligh Dyer. 4. Folch. 5. Hara e Radin. I. Coutinho, Ana Paula Cerino. II. Cruz, Richtier Gonçalves da. III. Título.</p>
-------	--

JORDANNA CRUZEIRO

COMPARAÇÃO DE DIFERENTES MÉTODOS ANALÍTICOS PARA
QUANTIFICAÇÃO DE LIPÍDIOS NO CREME DE RICOTA

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como parte dos requisitos
para obtenção do título de bacharel em
Biomedicina - Centro Universitário
Sagrado Coração.

Aprovado em: ___/___/___.

Banca examinadora:

Prof.^a Dra. Ana Paula Cerino Coutinho (Orientadora)
Centro Universitário Sagrado Coração

Prof. Dr. Danilo Antonini Alves

Centro Universitário Sagrado Coração

Dedico este trabalho aos meus pais e
minha querida avó, com carinho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a meu pai, por me fazer capaz de realizar meu sonho e me fazer enxergar com carinho a pessoa que tenho dentro de mim, me dando os melhores conselhos para seguir firme em meu trajeto e performance. A minha mãe por me orientar e guiar para atingir meus propósitos com audácia e altruísmo.

As minhas amigas por me fornecerem diversão, lágrimas, momentos felizes e por estarem comigo nesses quatro anos, muito obrigada.

As minhas duas e amadas Marias, minha vó Maria Alice Martins, por todo amor e fortalecimento que me deu ao longo desta jornada, em dias de solidão e desespero, me acalmando com suas palavras de fé e compaixão com todo sentimento que eu não pude conter em determinadas situações, e a Maria Valdete Canduzin C. por ser a mulher mais carinhosa que conheci em minha vida, mesmo não conseguindo ver minha formatura em terra, pedirei a Deus o lugar mais lindo no céu. Mesmo se passando 8 meses desde sua partida, meu coração ainda dói, mas as memórias em que criei com a senhora estão cicatrizando meu coração aos poucos, quero somente a alegria da senhora ao me ver pegar o canudo, espero ter o prazer de sonhar com seu lindo sorriso neste dia.

Por fim, gostaria de agradecer a minha orientadora Prof.^a Dra. Ana Paula Cerino Coutinho, pela orientação, paciência e educação fornecidas a mim como professora e por toda afabilidade e conforto como pessoa e ao meu coorientador Prof.^o Dr. Richtier Gonçalves da Cruz, por me aceitar primeiramente como sua orientada, me apresentar esta linha de pesquisa e me instruir na metodologia do mesmo.

“Eles dizem que as melhores chamas brilham mais quando as circunstâncias são piores” (MIYAZAKI, Hayao 2004).

RESUMO

Os lipídios são encontrados na natureza e estão presentes em diversos alimentos, como gema do ovo, leite, gorduras animais e óleos vegetais. Estas macromoléculas possuem um papel importante na qualidade dos alimentos, pois contribuem com atributos como textura, sabor, nutrição e as calóricas. Portanto, é essencial o conhecimento do teor de lipídios nos alimentos. Para a extração lipídica e determinação do teor de lipídios em um alimento, tradicionalmente utiliza-se métodos gravimétricos como Bligh Dyer, que consiste na mistura de metanol, clorofórmio e água juntamente com o alimento, que resultará em uma mistura heterogênea bifásica, assim como o método de Folch, porém sem utilizar água. A metodologia de Hara e Radin, também é um método a frio, no entanto, utiliza n-hexano e isopropanol para a extração lipídica, e também apresentará uma mistura heterógena bifásica. Desta forma, este trabalho teve como objetivo quantificar lipídios no creme de ricota pelo método de Bligh Dyer, Folch e Hara e Radin e, avaliar o rendimento, a toxidez dos solventes e a qualidade oxidativa dos diferentes métodos. Para a quantificação de lipídios no creme de ricota a técnica de Folch utilizou clorofórmio e metanol na proporção de 2:1 (v/v); de Bligh e Dyer usou clorofórmio, metanol e água na proporção de 1:2:0,8 (v/v) e de Hara e Radin, os solventes foram éter de petróleo e isopropanol na proporção de 3:2 (v/v). Dentre as metodologias avaliadas, o teor de lipídios que mais se aproximou dos valores informado na tabela de informações nutricionais, 17%, foi a metodologia de Bligh Dyer, com 12,62%. Hara e Radin é a metodologia com menor toxicidade, porém, foi o que apresentou resultado mais distante, 0,53%. Já Folch, mesmo possuindo os mesmos reagente que o método de Bligh Dyer, apresentou um valor muito divergente, 1,28%.

Palavras-chave: lipídios; creme de ricota; Bligh Dyer; Folch; Hara e Radin.

ABSTRACT

Found in nature, lipids are present in various foods such as egg yolk, milk, animal fats and vegetable oils. These macromolecules play an important role in food quality, as they contribute with attributes such as texture, flavor, nutrition and caloric density. Therefore, it is essential to know the lipid content in food. For lipid extraction and determination of lipid content in a food, gravimetric methods such as Bligh Dyer, which consists of mixing methanol, chloroform and water together with food, are traditionally used, as well as Folch method, but without using water. Hara and Radin's methodology is also a cold method, however, it uses n-hexane and isopropanol for lipid extraction, and will also present a biphasic hegothogenmixture, and the phase of interest is at the top, while in the other two methods they are concentrated in the lower phase. Thus, this study aimed to quantify lipids in ricotta cream by the method of Bligh Dyer, Folch and Hara and Radin and to compare the lipid contents of a dairy derivative by different methods, evaluating the yield and toxicity of solvents. For the quantification of lipids in the ricotta cream, the Folch technique used chloroform and methanol in the proportion of 2:1 (v/v); of Bligh and Dyer, used chloroform, methanol and water in the ratio of 1:2:0.8 (v/v) and Hara and Radin, the solvents were petroleum ether and isopropanol in the ratio of 3:2 (v/v). Among the methodologies evaluated, the lipid content that most closely approached the values reported in the nutritional information table, 17%, was the Bligh Dyer methodology, with 12.62%. Hara and Radin and the methodology that presented lower toxicity, however, was the one with the most distant result, 0.53%. Folch, even though he had the same reagent as the Bligh Dyer method, presented a very divergent value of 1.28%.

Keywords: lipids; ricotta cream; Bligh Dyer; Folch; Hara and Radin.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	OBJETIVOS	12
2.1	OBJETIVO GERAL.....	12
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	12
3	REVISÃO DE LITERATURA	13
3.1	LIPÍDIOS	13
3.2	LIPÍDEOS DO LEITE BOVINO.....	18
3.3	CREME DE RICOTA	21
3.4	MÉTODOS DE EXTRAÇÃO PARA QUANTIFICAÇÃO DE LIPÍDIOS.....	22
4	MATERIAIS E MÉTODOS	24
4.1	AMOSTRAS	24
4.2	METODOLOGIAS	24
4.2.1	MÉTODO DE Blich Dyer	24
4.2.2	MÉTODO DE Folch (1957) – Adaptado.....	25
4.2.3	MÉTODO DE Hara e Hadin (1978) – Adaptado	26
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	27
6	CONCLUSÃO	30
	REFERÊNCIAS	31

1 INTRODUÇÃO

Os lipídios são biomoléculas capazes de realizar variadas funções, visto que atuam na reserva energética dos animais e sementes oleaginosas. Essas moléculas são armazenadas nas células de animais e plantas e compõem a estrutura das membranas biológicas. Os triglicerídeos ou lipídios possuem uma forma mais eficaz de armazenamento de energia nos organismos por apresentar uma menor oxidação do que os carboidratos, e por exigirem pouca água de solvatação quando armazenados. Ademais, os lipídios que integram a membrana biológica são moléculas anfipáticas e formam uma bicamada lipídica isolando dois ambientes aquosos; o líquido intracelular e o extracelular, oferecendo isolamento térmico, elétrico e mecânico para proteção de células e órgãos (LEOPOLDO, 2009; JUN *et al.*, 2016).

Os lipídios são um amplo e complexo grupo de compostos solúveis em solventes orgânicos e insolúveis em água, podendo ser divididos em distintas classes lipídicas com base em suas estruturas químicas (RYDLEWSKI, *et al.*, 2020).

Ademais, os lipídios são normalmente divididos em dois grupos, o primeiro compõe-se em compostos de cadeia aberta, caracterizados por possuírem uma cabeça polar e caudas apolares, e os pertencentes deste grupo seriam os triacilgliceróis, fosfoacilgliceróis e glicolipídeos. Já o segundo grupo é formado por cadeias cíclicas, os esteróis, como o colesterol (CAMPBELL; FARRELL, 2016).

Os lipídios estão presentes em diversos alimentos, como gema do ovo, leite, gorduras animais e óleos vegetais. O leite bovino contém triacilgliceróis, 1,2 – diacilgliceróis, monoacilgliceróis, ácidos graxos livres, fosfolipídeos etc. No leite, os triacilgliceróis estão presentes como glóbulo de gordura, sendo que esta pode ser utilizada na sua forma concentrada, nata e/ou creme de leite, obtida pela separação em centrífuga (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Os lipídios possuem um papel importante na qualidade dos alimentos, pois contribuem com atributos de textura, sabor, nutrição e calorias. Sua manipulação tem tido ênfase especial na pesquisa e no desenvolvimento de alimentos, sendo que a obtenção de conhecimento sobre a bioquímica dos lipídios é essencial para o estudo de diversas áreas biomédicas, como, por exemplo, a obesidade, o diabetes mellitus, aterosclerose e o papel de vários ácidos graxos poli-insaturados na nutrição

e saúde (LEOPOLDO, 2009; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; BOTHAM; MAYES, 2007).

Dessa forma, é essencial a quantificação de lipídios presentes nos alimentos, tanto para a indústria alimentícia (para a produção e especificações das informações nutricionais do produto) quanto para o consumidor, pois este fica ciente da quantidade e qualidade da gordura que está ingerindo.

Certamente a preocupação com a saúde vem crescendo cada vez, refletindo diretamente nos hábitos de consumo de produtos alimentícios. Em virtude disso, a população está optando por produtos com menos calorias e gorduras, incentivando as indústrias a buscar melhorias e oferecer alimentos mais saudáveis (GOMES, *et al.*, 2008).

Os produtos lácteos são alimentos muito consumidos. O creme de ricota é composto basicamente de creme de leite e queijo ricota e possui um alto teor de proteínas e de lipídios, resultando assim em uma fonte de ácidos graxos essenciais e vitaminas lipossolúveis A, D, E e K (GUSSO, 2013).

Em busca de atender o consumidor a procura de um alimento menos calórico, a determinação do teor de lipídios em alimentos se torna fundamental, já que o mesmo possui uma grande importância nutricional, uma vez que os compostos lipídicos são importantes fontes de calorias.

Para a extração lipídica os métodos mais adequados e tradicionalmente utilizados são os gravimétricos, como o Soxhlet e Bligh Dyer. No entanto, segundo Brum; Arruda e Regitano-D'arce (2009) "Os métodos de Bligh e Dyer, usando clorofórmio-metanol-água, e Bligh e Dyer, modificado, utilizando isopropanol-ciclohexano-água, foram mais adequados para extração de amostras líquidas, tais como leite, ovos e plasma humano."

Cecchi (2007) descreve uma série de vantagens do método de Bligh Dyer, como a extração de todas as classes de lipídios, inclusive os polares, podendo ser utilizado tanto em produtos secos como com alto teor de umidade, além da metodologia não necessitar de equipamentos especializados ou sofisticados. No entanto, esta metodologia requer o uso de solventes de alto grau de toxicidade tais como clorofórmio e metanol.

Outra vantagem do método de Bligh Dyer é a formação de uma mistura heterogênea bifásica, sistema que expõe duas fases formando uma mistura de duas substâncias divergentes, semelhando-se à mistura da água e do óleo. Neste caso, é

possível visualizar três componentes, clorofórmio, metanol e água (BRUM; ARRUDA; REGITANO-D'ARCE, 2009).

Portanto, o que torna possível a separação dos lipídios é a sua insolubilidade, já que o mesmo possui como característica sua hidrofobicidade. Sendo assim, seria contraproducente o uso de um único solvente para extração dos lipídios. Ademais, os lipídios neutros possuem ligações covalentes e são normalmente extraídos dos tecidos por solventes não polares, ao passo que os lipídios polares ligados por ligações de hidrogênio e forças eletrostáticas carece de solventes polares apto a quebrar essas ligações. O misto ideal de solventes para a extração dos lipídios dos tecidos deve ser polar o suficiente para removê-las da ligação às membranas celulares sem que haja uma reação química (BRUM; ARRUDA; REGITANO-D'ARCE, 2009).

Contudo, é sabido que a mistura gerada através do clorofórmio e do metanol é capaz de extrair tanto os lipídios neutros quanto os lipídios polares de forma eficientemente. Diversos estudos mostraram que, dependendo do tipo de tecido que será analisado, a escolha do método de extração influencia significativamente no resultado final. Conseqüentemente, pelo método de Bligh Dyer ser um procedimento simplificado do proposto por Folch, ambos são utilizados mundialmente para extração lipídica (BRUM; ARRUDA; REGITANO-D'ARCE, 2009; TONIAL *et al.*, 2009).

Levando em consideração os principais riscos à saúde e ao meio ambiente, dos métodos que se baseiam no uso da mistura clorofórmio-metanol, Hara e Radin (1978), propuseram um método bastante simples, eficaz e menos tóxico, baseado no uso da mistura de n-hexano-isopropanol. Além disso, segundo Brum, Arruda e Regitano-D'arce (2009), a metodologia de Hara e Radin possui uma vantagem às demais por manter a fase orgânica na parte superior do sistema heterogêneo bifásico presente no final do procedimento, assim posteriormente no momento da coleta do material não haverá o risco de contaminação da fase aquosa com a fase orgânica.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve como objetivo quantificar lipídios no creme de ricota pelo método de Bligh Dyer, Folch e Hara e Radin e, avaliar o rendimento, a toxidez dos solventes e a qualidade oxidativa dos diferentes métodos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Pesquisar e selecionar métodos a frio para a quantificação de lipídios no creme de ricota;
- Estudar e aprender sobre os lipídios e seus componentes;
- Investigar sobre a variedade de lipídios presente no leite bovino.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 LIPÍDIOS

Os lipídios juntamente com os carboidratos e proteínas formam um dos grupos mais relevantes e frequentes encontrados na natureza, e podem ser de origem vegetal e animal. Também são uma das principais fontes de energia utilizadas pelo homem, sabendo que as gorduras fornecem em peso 2,3 vezes mais calorias que carboidratos e proteínas, pensando que estes últimos grupos de compostos acabam se transformando em gorduras no organismo humano, é visto que os lipídios possuem funções biológicas específicas (BOBBIO; BOBBIO, 2003).

Na alimentação, os lipídios possuem papel essenciais por serem relevantes não apenas por seu valor energético, mas também por transportarem vitaminas lipossolúveis e ácidos graxos essenciais e, por serem, em parte, responsáveis pela estrutura das membranas celulares (ARAUJO et al., 2014).

Quimicamente, os lipídios são um amplo grupo de compostos diversos que são solúveis em solventes orgânicos. Em geral, os alimentos lipídicos são indicados como gorduras (sólidos) ou óleos (líquidos), correspondentes a seu estado físico a temperatura ambiente. Os alimentos lipídicos também são classificados como apolares (triacilglicerol e colesterol) e polares (fosfolipídeos), ao qual, indicam diferenças em sua solubilidade e em suas propriedades funcionais. Já os lipídios polares costumam possuir uma “cabeça” hidrofílica, com alta afinidade por água, ligada a uma “cauda” hidrofóbica e lipofílica, apresentando alta afinidade por óleos (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Os acilgliceróis são gorduras apolares que existem na forma de mono-, di- e tri-ésteres, conhecido como monoacilglicerol, diacilglicerol e triacilgliceróis, respectivamente (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Os monoglicerídeos são glicerídeos, nos quais, apresentam apenas uma hidroxila do glicerol esterificada com o ácido graxo e os diglicerídeos, que possuem dois grupos hidroxilas do glicerol esterificadas com ácidos graxos, tais estão presentes

em menos de 2% dos lipídeos nos alimentos, mas podem ser sintetizados pela hidrólise parcial dos triglicerídeos (RIBEIRO; SERAVALLI, 2007).

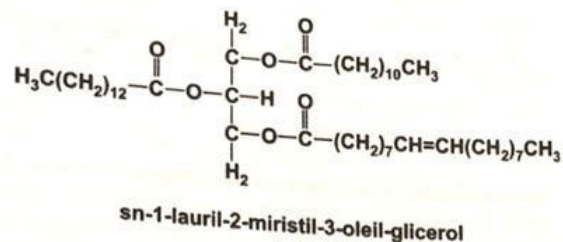
Os triglicerídeos, nomeados de acordo com o número de ácidos graxos na molécula, podem ser denominados como monoacilglicerol (um ácido graxo), diacilglicerol (dois ácidos graxos), triacilglicerol (três ácidos graxos) (RIBEIRO; SERAVALLI, 2007).

Ademais, os lipídios abrangem um número muito vasto de substâncias, motivo pelo qual não é possível classificá-los exatamente, de forma genérica, sendo considerados “compostos encontrados nos organismos vivos, geralmente insolúveis em água, mas solúveis em solventes orgânicos” (BOBBIO; BOBBIO, 2003).

Por serem um grupo heterogêneo de substâncias relacionadas com ácidos graxos, é importante entender que há exceções, embora raras, relacionadas a sua solubilidade, uma vez que os monoacilgliceróis constituídos por ácidos graxos de baixo peso molecular são mais solúveis em água do que em solventes orgânicos (ARAUJO et al., 2014; BOBBIO; BOBBIO, 2003).

Os lipídios podem ser classificados em simples, compostos e derivados. Os lipídios simples (Figura 1) quando, por hidrólise total, origina somente ácidos graxos e álcoois, e são divididos em óleos ou gorduras (JORGE, 2009).

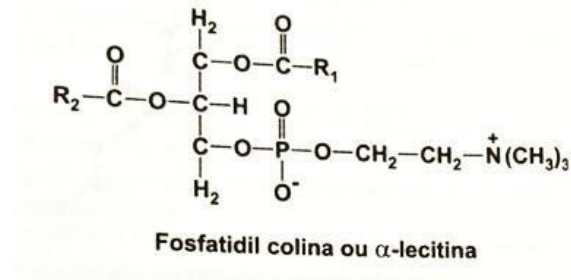
Figura 1 - Estrutura dos lipídios simples.



Fonte: ARAUJO et al. (2014, p. 93).

Os lipídios compostos (Figura 2) quando, por hidrólise total, produzem ácidos graxos e álcoois e ainda apresentam em suas moléculas um outro grupo funcional, como por exemplo os fosfolipídios, os glicolipídios e os sulfolipídeos (ARAUJO et al., 2014; BOBBIO; BOBBIO, 2003).

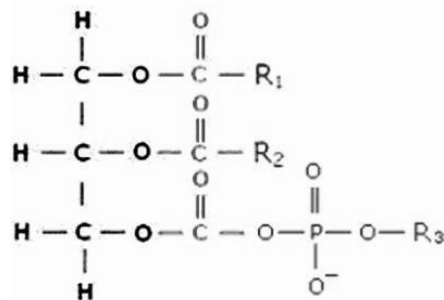
Figura 2 - Estrutura dos lipídios compostos.



Fonte: ARAUJO et al. (2014, p. 93).

Um dos lipídios compostos mais conhecidos são os fosfolipídios, que contêm fósforo em sua estrutura química (Figura 3) e possui em seu núcleo molecular, glicerol ou esfingosina. No caso dos fosfolipídios que possuem o glicerol, são chamados fosfoglicéricos, já com esfingosina, são denominados esfingolipídios, possuindo pouca importância dentro da área nutricional (JORGE, 2009).

Figura 3 - Estrutura química dos fosfolipídios.



Fonte: SOUZA; NEVES, (s.d.).

Os fosfolipídios se apresentam em todas as células animais e vegetais e têm em comum o ácido fosfórico. São glicerídeos nos quais uma molécula de ácido orgânico, seja qual for a posição, é alterada por um grupo contendo ácido fosfórico e uma base nitrogenada (BOBBIO; BOBBIO, 2003).

Ademais, em geral, o que os diferem dos glicerídeos quanto à composição dos ácidos presentes na molécula; são os grupos acíclicos dos fosfolipídios mais insaturados, e encontrados em muitos óleos vegetais, possuindo dois resíduos de ácido oleico esterificados ao glicerol. Integrado em sua molécula uma fração hidrofílica e uma fração hidrofóbica, razão pela qual são ótimos agentes surfactantes e emulsionantes (BOBBIO; BOBBIO, 2003).

A existência de um grupo fosfato altamente polar nos fosfolipídios os tornam compostos surfactantes. Em virtude desta atividade em sua superfície é possível aos fosfolipídios se organizarem em bicamadas, as quais são determinantes para as

propriedades das membranas biológicas. Dado que as membranas celulares necessitam manter sua fluidez, os ácidos graxos presentes nos fosfolipídios normalmente são insaturados com a finalidade de prevenir uma cristalização à temperatura ambiente (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

A ação surfactante dos fosfolipídios permite que eles possam ser validos para a modificação das propriedades físicas de lipídeos, atuando como emulsificantes e também para a modificação do comportamento de cristalização de lipídeos (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

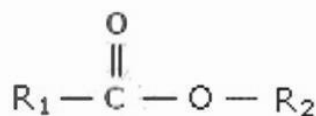
Por fim, os lipídios derivados, provenientes da hidrólise dos lipídios simples e compostos, são eles: ácidos graxos, hidrocarbonetos, vitaminas lipossolúveis, pigmentos, compostos nitrogenados entre os quais, colina, serina, esfingosina e aminoetanol (JORGE, 2009; BOBBIO; BOBBIO, 2003).

Os lipídios simples são subdivididos em gorduras e ceras. As gorduras são ésteres estruturada por ácidos graxos de elevado peso molecular e glicerol (álcool). Procedente de origem animal ou vegetal, os óleos e gorduras, são formados principalmente por mistura de vários triglicerídios (ARAUJO et al., 2014; LASZLO; BASSO; COELHO, 1986).

É possível diferenciar óleos e gorduras pelo ponto de fusão, ou seja, em temperatura ambiente as gorduras são sólidas e os óleos líquidos. Não há, claramente, uma evidente separação, pois a gordura de coco, por exemplo, apresenta-se líquida nos dias quentes (BOBBIO; BOBBIO, 2003; LASZLO; BASSO; COELHO, 1986).

Quimicamente, a cera é classificada como uma mistura complexa de ésteres de ácidos carboxílicos e álcoois de cadeia longa (Figura 4), que geralmente servem decobertura protetora para plantas e animais (CAMPBELL; FARRELL, 2007).

Figura 4 - Estrutura química da cera.



Fonte: SOUZA; NEVES, (s.d.).

Amplamente distribuídas na natureza, as ceras, são encontradas em pequenas quantidades, correspondente a sua grande resistência à decomposição e

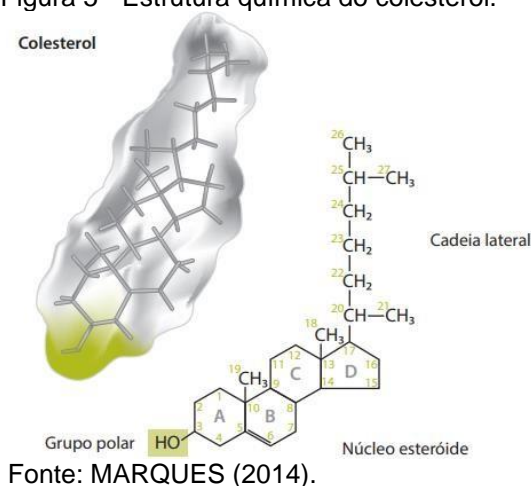
insolubilidade em água, são frequentemente encontradas formando uma camada protetora em plantas e animais (BOBBIO; BOBBIO, 2003).

As ceras são encontradas na superfície de tecidos vegetais e animais, e são encarregadas por inibir a perda de água ou repelir a água. Além disso, elas costumam ser inseridas na superfície de frutas para retardar sua desidratação durante o armazenamento (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Já os esteróis, derivados dos esteroides, são lipídeos apolares que possuem em sua estrutura três anéis de seis carbonos e um anel de cinco carbonos que está ligado a uma cadeia alifática. Estes apresentam ligado ao carbono 3 de seu anel, um grupo hidroxila, tal grupo faz com que este composto seja surfactante (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Os esteróis são nomeados referente a sua origem, como os zoosteróis (origem animal), fitosteróis (origem vegetal) e os micosteróis, (provenientes de microorganismos) (BOBBIO; BOBBIO, 2003). O esteróide mais interessante para discussões é o colesterol, representado na (Figura 5), se encontra presente nas membranas biológicas, especialmente nos animais (eucariontes), ele se encontra ausente em membranas celulares procarióticas (vegetais) (CAMPBELL; FARRELL, 2007).

Figura 5 - Estrutura química do colesterol.



Seu único grupo hidrofílico em sua estrutura é a hidroxila. Consequentemente, obtém-se uma molécula é altamente hidrofóbica. Ademais, por possuir diversas funções colesterol biológicas, incluindo sua função como precursor de outros esteróides e da vitamina D (CAMPBELL; FARRELL, 2007). O colesterol,

se encontra em altas concentração em tecidos do sistema nervoso, fígado e em gorduras depositadas (BOBBIO; BOBBIO, 2003).

Por fim, os ácidos graxos são chamados como ácidos monocarboxílicos alifáticos. Todavia, salvo algumas exceções, todos os ácidos encontrados na natureza possuem um alto peso molecular, em geral de cadeia linear (ácidos graxos normais), saturados e insaturados (BOBBIO; BOBBIO, 2003).

Morfologicamente, o ácido graxo tem um grupo carboxila na extremidade polar e uma cadeia de hidrocarbonetos na cauda apolar. Tais são compostos anfipáticos porque o grupo carboxila é hidrofílico e a cauda de hidrocarboneto é hidrofóbica (CAMPBELL; FARRELL, 2007).

Um ácido graxo que decorre em um organismo vivo normalmente possui um número par de átomos de carbono, e a cadeia de hidrocarbonetos geralmente não detêm ramificações. Ou seja, caso houver ligações duplas entre os carbonos na cadeia, o ácido graxo é insaturado; se houver apenas ligações simples, ele é saturado (CAMPBELL; FARRELL, 2007).

O aspecto natural das ligações duplas em ácidos graxos insaturados é a configuração *cis*. Nesta configuração, os carbonos da cadeia alifática estão do mesmo lado da ligação dupla, no tempo em que as ligações duplas *trans* teriam os carbonos em lados opostos. Além de que, os ácidos graxos insaturados têm pontos de fusão mais baixos que os saturados (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; CAMPBELL; FARRELL, 2007).

3.2 LIPÍDEOS DO LEITE BOVINO

O leite de bovino é o mais utilizado na alimentação humana, sendo que há milhares de anos arqueólogos encontraram evidências de ordenhas de vacas para obtenção de leite, sendo os sumérios os primeiros a criar gado de corte e a utilizarem o leite na alimentação (ROQUE et al., 2003).

O leite é um produto de alto grau de complexidade, composto por diversos tipos de moléculas. Seus principais componentes são a água, gordura, proteínas, lactose, minerais e sólidos totais. Além disso, o leite possui pequenas quantidades de vitaminas, bactérias, leucócitos e células mamárias secretoras (SOARES, 2013).

É esclarecido que o leite bovino é composto por uma série de nutrientes sintetizados na glândula mamária através de precursores provindos da alimentação e do seu metabolismo. (GONZALEZ; DURR; FONTANELI, 2001).

Com relação à concentração de lipídios no leite, pesquisas demonstram que o teor de gordura é susceptível a oscilações devido a vários fatores, como a raça, turno de ordenha e período de lactação (GUERRA et al., 2008).

O conteúdo e a composição dos triglicerídeos do leite variam de acordo com a espécie. Em ruminantes, a proporção de ácidos graxos de cadeia curta e insaturados é muito maior do que em animais monogástricos. Os precursores de ácidos graxos sintetizados no tecido mamário incluem glicose, acetato e beta-hidroxibutirato. No entanto, alguns ácidos graxos da dieta ou do rúmen e do metabolismo intestinal entram na glândula mamária a partir do sangue. A maioria dos triglicerídeos transportados pelas lipoproteínas entra na glândula mamária. Cerca de 25% dos ácidos graxos do leite vêm da dieta e 50% do plasma (GONZALEZ; DURR; FONTANELI, 2001).

No leite bovino os triglicerídeos representam, sem dúvida, a maior proporção dos lipídeos, compreendendo de 96 a 98% de seu total (Tabela 1) (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Tabela 1 - Composição lipídica do leite bovino.

Lípídeo	Porcentagem em massa	g/L
Triacilgliceróis	95,85	30,7
Diacilgliceróis	2,25	0,72
Monoacilgliceróis	0,08	0,03
Ácidos Graxos livres	0,28	0,09
Fosfolípídeos	1,11	0,36
Colesterol	0,46	0,15
Ésteres de colesterol	0,02	0,006
Hidrocarbonetos	Traços	Traços

Fonte: DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA (2010).

As concentrações listadas na Tabela 1 são representativas do leite fresco. Entretanto, durante a estocagem pode ocorrer o aumento das concentrações de

ácidos graxos livres e mono- e diacilgliceróis pela lipólise (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Devido à relação positiva entre certos ácidos graxos e a saúde humana, torna-se importante que os consumidores entendam a importância da composição de ácidos graxos do leite. O conteúdo e a composição de ácidos graxos em diferentes frações lipídicas no leite também se tornaram importantes devido às consequências técnicas e sensoriais relatadas recentemente (ANGULO et al., 2012).

Além de se apresentar em maior porcentagem de variabilidade, os ácidos graxos, são, entre todos os componentes do leite, os mais passíveis de alterações por fatores ambientais. De modo que, devido a síntese de ácidos graxos de cadeia curta e a bio-hidrogenação ocorrer no rúmen, a proporção entre ácidos graxos saturados e insaturados não varia muito (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Ácidos graxos saturados refere-se a todos que possuem átomos de carbono de cadeia hidrocarbonada ligados a, pelo menos, dois átomos de hidrogênio, ou seja, compõe-se somente ligações carbono-carbono simples (saturadas); quimicamente menos reativas (JORGE, 2009).

Já os ácidos graxos insaturados existem naturalmente, principalmente nas plantas e em animais que vivem a baixas temperaturas. Em sua maioria, tais ácidos graxos contém um número par de átomos de carbono (normalmente dezoito) e ligações duplas na configuração cis (JORGE, 2009).

No primeiro compartimento do estômago dos ruminantes, os lipídios passam por um metabolismo de alta intensidade, juntamente de uma ação microbiana que ocorre juntamente (CHILLIARD; FERLAY, 2004). No entanto, se os ácidos graxos insaturados forem ingeridos por encapsulação em proteínas desnaturadas, eles passarão inalterados pelo rúmen, resultando em uma incorporação maior de ácidos graxos insaturados nos triacilgliceróis (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

A alteração na composição dos triacilgliceróis é instigante, em virtude dos benefícios que os ácidos graxos insaturados trazem à saúde. Entretanto, pensando que a oxidação dos lipídios está ligada ao sabor, cor e odor do alimento, é algo a se preocupar, principalmente porque seus possíveis efeitos sobre a estabilidade oxidativa dos lipídios e a instabilidade resultante no sabor dos alimentos, ainda não foram avaliadas por completo (JUNIOR et al., 2013; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Várias estratégias têm sido investigadas para fornecer produtos com menores proporções de ácidos graxos saturados. A adição de uma suplementação lipídica nas dietas de ruminantes é uma área de extensa pesquisa, pois pode ser benéfica para aumentar o teor de ácidos graxos insaturados em produtos de origem animal, como a carne e o leite. O perfil dos ácidos graxos também pode ser influenciado pela genética, pois quando se utiliza cruzamentos o perfil dos ácidos muda em favor da deposição dos ácidos graxos benéficos como o ácido linoléico conjugado (CLA) (OLIVEIRA et al., 2011).

A respeito deste ácido, há evidências dele ser capaz de inibir o mecanismo que leva o nosso corpo a acumular gordura e permite que ele use nossas reservas de gordura como fonte de energia. O CLA é encontrado nos lipídios do leite e na carne de ruminantes, apresentando duas fontes: a biohidrogenação parcial do ácido linoléico no rúmen e a síntese endógena no tecido adiposo e na glândula mamária. A síntese endógena possui maior importância do que a biohidrogenação ruminal na secreção de CLA, pois a mesma é responsável por cerca de 80% do CLA presente no leite (MARTINEZ, 2009).

No entanto, a grande quantidade do ácido vaccênico, também é importante, tanto para ruminantes como para humanos, por também ser capaz de sintetizar CLA. Todavia, a crescente concentração de CLA no leite pode ser alcançada por outras estratégias, como a alimentação, buscando o aumento do próprio CLA no rúmen como também de seu precursor para a síntese endógena, o ácido vaccênico (MARTINEZ, 2009).

Já os fosfolípidos e as frações de colesterol dos lipídios do leite estão aparentes no material da membrana introduzido no leite durante a pinocitose de gotículas lipídicas, através da membrana plasmática dentro do lúmen do alvéolo (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

3.3 CREME DE RICOTA

O creme de ricota é produzido a partir da ricota e do creme de leite, e é categorizado como queijo fresco de sabor suave. Possui consistência mole e homogênea, facilitando a adição de ingredientes e condimentos que enobrecem este produto, atendendo assim as exigências dos consumidores (GUSSO, *et al.*, 2013).

O processo de fabricação da ricota cremosa se assemelha muito com a produção da ricota comum, diferindo apenas quanto à temperatura utilizada e ao uso do vapor direto (RIBEIRO *et al*, 2005).

A ricota cremosa é menos dessorada, o que se reflete na sua consistência e rendimento. Pelo produto possuir uma alta umidade, torna-se mais propensa a deterioração, resultando na redução de sua vida em prateleira (RIBEIRO *et al*, 2005). Ademais, o creme de ricota apresenta um alto teor de proteínas do soro e aminoácidos essenciais, considerável valor energético, e é fonte de ácidos graxos essenciais e vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) (GUSSO, *et al.*, 2012).

É sabido, que a legislação a respeito deste produto é deficiente, não dispondo de informações sobre sua composição, classificação, requisitos de higiene, normas de envasamento e rotulagem, métodos de amostragem e análise, resultando em grande diversidade de composição. No Brasil são escassos os dados da literatura a respeito dos parâmetros físico-químicos de ricota, tornando difícil o estabelecimento de padrões (SOUZA, 2000 *apud* GUSSO, 2013).

3.4 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO PARA QUANTIFICAÇÃO DE LIPÍDIOS

O conteúdo total e a composição lipídica em um alimento podem variar bastante. Como os lipídios desempenham um papel importante na qualidade dos alimentos, contribuindo com os atributos de textura, sabor, nutrição e densidade calórica, a investigação do teor de lipídios tem como objetivo verificar a possível alteração da composição, a fim de modificar a textura, alterar a composição de ácidos graxos e colesterol, diminuir o conteúdo total de gordura, alterar a biodisponibilidade e tornar os lipídios mais estáveis diante da oxidação (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Em virtude disso, a estabilidade física dos lipídeos é importante para a qualidade do alimento, já que eles se comportam de forma instável termodinamicamente. Assim, para que haja alterações em sua composição e mantenha uma boa qualidade de produção nos alimentos, é fundamental compreender e aprender sobre suas propriedades químicas e físicas (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Todavia, quando se pretende quantificar o conteúdo lipídico de derivados lácteos é necessário averiguar a melhor técnica de análise, para que se possam obter resultados confiáveis.

Inicialmente, para realizar a análise de lipídeos em um alimento é necessário extraí-los com um solvente. Lipídios hidrofóbicos, como os triacilgliceróis e colesterol, estão normalmente presentes e são facilmente extraídos pela maioria dos solventes, como o éter de petróleo e n-hexano. Já, os lipídios anfífilicos, como os fosfolipídios e glicolipídios, estão fortemente associados com proteínas e água, contribuindo para a formação da estrutura do alimento (GURR, 1992).

Os procedimentos para a extração dos lipídeos de tecidos animais ou vegetais exigem a observação de alguns passos importantes: A primeira, seria a fase pré-tratamento (redução do tamanho da amostra); a seguir, tem-se a homogeneização da amostra na presença de um solvente; logo após, a separação das fases líquidas (orgânica e aquosa) e sólida; a remoção dos contaminantes não-lipídicos; e por fim, a remoção do solvente e secagem do extrato (SHAHIDI; WANASUNDARA, 1998).

Os métodos de Hara e Radin, Bligh Dyer e Folch são métodos de extração a frio (temperatura ambiente), ao qual tem-se como maior preocupação quanto ao processo de extração a toxicidade dos solventes (BRUM, 2004).

Os métodos de Folch e Bligh Dyer utilizam reagentes de alta toxicidade, no entanto, se mostram muito eficazes na extração de lipídeos totais, principalmente os polares. Em virtude disso, é recomendável o uso de capela de exaustão, pois, é sabido que a inalação do metanol é tóxica em concentrações elevadas (acima de 2.000 ppm), podendo provocar irritação das membranas mucosas do trato respiratório e causar efeitos sistêmicos (CASTRO, 2011).

O clorofórmio é um solvente utilizado nesses métodos e é considerado tóxico, e sua inalação é capaz de ocasionar um desconforto na epiderme, olhos e trato respiratório, podendo afetar o sistema nervoso central, rins, fígado e o sistema cardiovascular. Níveis elevados e uma longa exposição poderá causar câncer (CASTRO, 2011).

A metodologia de Hara e Radin vem demonstrando uma adequada substituição do clorofórmio e metanol, pelo n-hexano ou éter de petróleo, pois além desses reagentes serem menos tóxicos, ainda demonstram eficácia semelhante aos demais métodos (HARA; RADIN, 1978).

Segundo Brum *et al* (2009) na metodologia de Hara Radin, durante a separação das fases, a fração orgânica que contém os lipídios se mantém na parte superior, e

dessa forma evita contaminações na recuperação da fase orgânica, sendo que este problema ocorre nas metodologias de Bligh Dyer e Folch.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 AMOSTRAS

Para a realização desta pesquisa foi utilizado o creme de ricota, comprado em um supermercado na cidade de Bauru/SP, e o experimento foi realizado logo após a aquisição do produto.

As análises de lipídios foram realizadas no Laboratório de Análises de Alimentos do Centro Universitário Sagrado Coração (UNISAGRADO) e realizadas em duplicata.

4.2 METODOLOGIAS

Para quantificação de lipídios no creme de ricota foi utilizado 3 diferentes técnicas: Folch com clorofórmio e metanol na proporção de 2:1 (v/v); de Bligh e Dyer, com clorofórmio, metanol e água na proporção de 1:2:0,8 (v/v) e de Hara e Radin, com éter de petróleo e isopropanol na proporção de 3:2 (v/v).

Os métodos de Folch e Hara e Radin, sofreram algumas modificações.

4.2.1 MÉTODO DE BLIGH DYER

Para realização deste método, utilizou-se a metodologia de Bligh; Dyer e Can (1959). Inicialmente, em um frasco com tampa de 250 mL, pesou-se cerca de 3 g da

amostra e foi adicionado 10 mL de clorofórmio, 20 mL de metanol e 8 mL de água destilada. Em seguida as amostras foram agitadas em movimentos rotatórios por 30 minutos. Após a agitação foi adicionado 10 mL de clorofórmio e 10 mL da solução de sulfato de sódio 1,5%, e os frascos foram agitados por mais 2 minutos, e deixados em repouso para a separação de fases.

A fase inferior continha clorofórmio e lipídeos, e então pipetou-se entre 13 e 15 mL em um tubo com tampa com aproximadamente 1g de sulfato de sódio anidro. O tubo foi agitado, e depois filtrou-se a mistura até obter uma solução translúcida.

Com uma pipeta volumétrica transferiu-se exatamente 5 mL de filtrado para uma vidraria previamente tarada e pesada.

Por fim, as amostras foram levadas a estufa a 105°C, até evaporar o solvente. Logo após, as amostras foram resfriadas em um dessecador por 30 minutos, e depois foram pesadas em uma balança analítica (peso final).

A porcentagem de lipídeos foi determinada pela equação (1).

$$\% \text{ Lipídios} = \frac{[20 \times (\text{Peso final} - \text{Peso da vidraria})] \div 5}{\text{Peso da amostra}} \times 100 \quad (1)$$

4.2.2 MÉTODO DE FOLCH (1957) – ADAPTADO

Para realização desta metodologia, utilizou-se o método de Folch, Lees e Stanley (1957), modificado por Christie (1982).

O procedimento constituiu-se em pesar 5 g da amostra em um frasco com tampa de 250 mL, adicionando-se inicialmente 5 mL de metanol. Em seguida, a amostra foi agitada por 5 minutos, e após esta etapa, adicionou-se 10 mL de clorofórmio e a agitação foi efetuada novamente por mais 10 minutos.

A mistura foi filtrada, sendo que o resíduo sólido foi ressuspendido com 6 mL de solução de clorofórmio-metanol (2:1) e homogeneizado por 5 minutos. Logo após, a mistura foi lavada com 10 mL de clorofórmio e 5 mL de metanol.

Nos 25% do volume total do filtrado foi adicionado 20 mL de cloreto de potássio 0,88%. A mistura deve ser agitada vigorosamente e deixada em repouso.

A fase orgânica se encontra na parte inferior, ou seja, o extrato de clorofórmio contendo os lipídios. Esta foi transferida para um béquer, e filtrada novamente em um papel filtro contendo sulfato de sódio anidro.

Desta solução final foram pipetados 3 mL para a determinação de lipídios totais.

Em seguida, as amostras foram levadas a estufa a 105°C, até evaporar o solvente. As amostras foram colocadas em um dessecador por 30 minutos, e depois foram pesadas em uma balança analítica (peso final).

A equação (2) é utilizada para determinar o teor de lipídios.

$$\% \text{ Lipídios} = \frac{(\text{Peso final} - \text{Peso da vidraria})}{\text{Peso da amostra}} \times 100 \quad (2)$$

4.2.3 MÉTODO DE HARA E HADIN (1978) – ADAPTADO

Utilizou-se a metodologia de Hara e Radin (1978) modificada por Brum et al. (2009), no qual foi substituído o n-hexano por éter de petróleo.

A extração constituiu-se em pesar 10 g da amostra em um frasco com tampa de 250 mL, logo após foi adicionado 90 mL de isopropanol e agitado por 2 minutos. Em seguida, adicionou-se 60 mL de éter de petróleo e homogeneizou a amostra por mais 2 minutos. Seguidamente, filtrou-se a solução utilizando uma mistura de 25 mL de éter de petróleo e isopropanol (3:2) e novamente a amostra foi filtrada.

Consecutivamente, pipetou-se 60 mL de solução de sulfato de sódio (1g de Na₂SO₄ anidro/15 mL de solução) e misturou-se juntamente as amostras. Logo após, foram homogeneizadas até a separação completa das fases.

Com o auxílio da pipeta volumétrica, retirou-se 3 mL da fase superior, que foi transferida para uma capsula de porcelana previamente tarada e pesada.

As amostras foram levadas a estufa a 105°C, até evaporar o solvente. Por fim, tais amostras foram colocadas em um dessecador por 30 minutos, e depois pesadas em uma balança analítica (peso final).

A equação (3) é utilizada para determinar o teor de lipídios.

$$\% \text{ Lipídios} = \frac{(\text{Peso final} - \text{Peso da vidraria})}{\text{Peso da amostra}} \times 100 \quad (3)$$

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Devido à limitação em relação aos equipamentos, buscou-se métodos que seriam possíveis de realizar a extração e quantificação com o que o laboratório disponibilizava. Assim, foram selecionados os métodos de Folch, que assim como Bligh Dyer, também utiliza o clorofórmio e metanol em sua realização, facilitando assim na obtenção de reagentes e, também, por adicionar solução de cloreto de potássio, visando uma melhor separação das fases (BRUM; ARRUDA; REGITANO-D'ARCE, 2009).

E por fim, o método de Hara e Radin, que foi designado por ser simples e por apresentar um nível de toxicidade menor que os outros, já que é baseado em uma mistura de n-hexano-isopropanol (BRUM, 2004). Visto que, mesmo possuindo uma toxicidade menor, este método é eficaz em sua reação e em seu poder de extração de componentes indesejáveis e lipídios (BRUM; ARRUDA; REGITANO-D'ARCE, 2009). Além disso, outra vantagem dessa extração, é que durante a separação das fases, na qual, a fase orgânica (contendo os lipídios), que irá ser extraída, fica na parte superior, facilitando sua remoção e evitando uma indesejável contaminação (BRUM, 2004).

A Tabela 1 mostra os teores de lipídios obtidos pelos métodos de Bligh Dyer, de Folch e de Hara e Radin. Tais métodos, foram utilizados com o intuito de quantificar os lipídios no creme de ricota, obtendo assim um teor de gorduras totais (saturadas, trans, monoinsaturadas, poli-insaturadas).

Através da informação nutricional do rótulo do produto foi possível comparar os teores de gorduras totais com os valores obtidos e selecionar assim, uma metodologia adequada para utilização em produtos lácteos, especificamente para creme de ricota.

Tabela 2 - Teores de lipídios por diferentes metodologias.

Métodos	Peso da Vidraria (g)	Peso da amostra (g)	Peso da vidraria + lipídios (g)	% Lipídios	Média ± D.P *
Bligh Dyer	20,4620	3,0701	20,5601	12,78%	12,62 ± 0,16
	26,3059	3,0090	26,3996	12,45%	
Folch	27,4280	5,0276	27,4781	0,99%	1,28% ± 0,08
	25,3529	5,1870	25,4340	1,56%	
Hara e Radin	32,3385	10,0744	32,3880	0,49%	0,53% ± 0,0016
	26,8389	10,0536	26,8970	0,57%	

* D.P. = desvio padrão

Fonte: Elaborado pelo autor.

Dentre todas as metodologias aplicadas, o teor de lipídios que mais se aproximou do valor das informações nutricionais, 17% de gorduras totais, foi a metodologia de Bligh Dyer, apresentando 12,62 %. Sendo que, ao considerar uma variação de 20%, estabelecido pela ANVISA, a faixa de variação é de 13,6 – 20,4%; entretanto, o teor de lipídios por Bligh Dyer ainda apresentou valores inferiores.

No entanto, mesmo obtendo o valor mais próximo quando comparada as demais metodologias, o método de Bligh Dyer não atingiu o esperado quanto a sua eficácia, assim como os demais métodos, Folch e Hara e Radin.

Supostamente, no caso das metodologias de Folch e Hara e Radin, houve alterações na quantidade de solventes utilizados, sem alterar a quantidade de amostra para a realização do método, gerando assim, um possível resultado insatisfatório na extração de lipídios no creme de ricota.

Referente a toxidez dos reagentes utilizados, sabe-se que Bligh Dyer e Folch utilizam os mesmos reagentes para extração lipídica, o clorofórmio e metanol. Estes solventes são considerados mais tóxicos e perigosos que o éter de petróleo e o isopropanol, que são os solventes orgânicos utilizados no método de Hara e Radin.

No entanto, no método de Folch utiliza-se uma quantidade maior de clorofórmio e menor quantidade de metanol quando comparado com Bligh Dyer. Apesar de ambos usarem solventes mais tóxicos que o método de Hara e Radin, o método de Bligh Dyer apresentou maior eficiência na extração e quantificação de lipídeos.

Para a extração de lipídeos é necessário que se tome certas precauções, pois uma contaminação ou extração inadequada do produto de interesse irá remeter em resultados e interpretações errôneas. Portanto, as amostras foram analisadas com total cuidado, para evitar a oxidação dos ácidos graxos, a qual pode comprometer a identificação e quantificação lipídica (BRUM, 2009).

Ademais, segundo Brum (2009), o método de Bligh Dyer e Folch, além de utilizarem uma mistura entre dois solventes, tais possuem uma alta capacidade de extraírem lipídios neutros e polares, além de, superarem as dificuldades mencionadas acima.

No caso do éter de petróleo, utilizado na metodologia de Hara e Radin, é visto através de outros trabalhos, como de Gusso et al (2012); Brum et al, (2009) e Madureira (2011) que o reagente obteve uma qualidade oxidativa melhor quando aplicado em altas temperaturas.

Diversos pesquisadores se dedicam ao estudo de comparação de métodos de extração de lipídeos. No entanto, a diversidade e as características de cada amostra não permitem diagnosticar e/ou rotular apenas um método de análise como sendo o melhor. Através disso, é necessário considerar as vantagens e desvantagens que cada método oferece e relacioná-lo com a amostra em questão, observando assim a compatibilidade dos solventes utilizados com o teor lipídico da amostra (GUSSO et al, 2012).

6 CONCLUSÃO

Os métodos de Bligh Dyer, Folch e Hara e Radin apesar de serem considerados métodos muito conhecidos e utilizados, não apresentaram resultados satisfatórios para o creme de ricota.

No entanto, pode-se notar que vários autores utilizaram a metodologia de Gerber e Roese-Gottlieb em alimentos lácteos. Então, estes métodos poderiam se apresentar mais adequados para a extração e quantificação de lipídios em derivados lácteos do que as metodologias utilizadas neste estudo.

REFERÊNCIAS

- ÂNGULO, Joaquin et al. *Distribution of conjugated linoleic acid (CLA) isomers and other fatty acids in polar and neutral fractions of milk from cows fed different lipid supplements*. **Revista Colombiana de ciências pecuárias**. Colômbia, v. 26 p.79-89, 2013. Disponível em: scielo.org.co/pdf/rccp/v26n2/v26n2a3.pdf. Acesso em: 04/11/2022.
- ARAUJO, W.M.C. *et al.* **Alquimia dos alimentos**. 3.ed. Brasília: SENAC, 2014.
- BOBBIO, Florinda O.; BOBBIO, Paulo A. **Introdução à química de alimentos**. 3.ed. Campinas: Livraria Varela, 2003.
- BLIGH, E.G., DYER, W.J.; CAN. J. **Biochem. Physiol.** 1959, 37, 911.
- BOTHAM, K.M.; MAYES, P. A. **Harper: Bioquímica ilustrada**. 27.ed. Porto Alegre: AMGH, 2007.
- BRUM, A.A.S.; ARRUDA, L.F.; REGITANO-D'ARCE, M.A.B. **Métodos de extração e qualidade da fração lipídica de matérias primas de origem vegetal e animal**. São Paulo - SP. Scielo, 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/bVRjZz6Qz7DRHhGksbrfVt/?lang=pt>. Acesso: 01/08/2022.
- BRUM, Aelson Aloir Santana. **Métodos de extração e qualidade da fração lipídica**. Piracicaba. Dissertação - USP. 2004. Disponível em: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11141/tde-26042005-141101/publico/aelson.pdf>. Acesso em: 03/11/2022.
- CAMPBELL, Mary K.; FARRELL, Shawn, O. **Bioquímica**. 5.ed. São Paulo: Cengage Learning, 2007.
- CAMPBELL, M.K.; FARRELL, S.O. **Bioquímica**. 2.ed. São Paulo: Cengage Learning, 2016.

CASTRO, Renata de Jesus Coelho. **Determinação do perfil de ácidos graxos em *Brachiaria* spp. por eletroforese capilar.** Juiz de Fora. Universidade Federal de Juiz de Fora, 2011. Disponível em: <https://repositorio.ufjf.br/jspui/bitstream/ufjf/4330/1/renatadejesuscoelhocastro.pdf>. Acesso: 01/08/2022.

CECCHI, Heloisa Máscia. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos.** 2.ed. Campinas: Unicamp, 2003.

CHILLIARD, Y.; FERLAY, A. *Dietary lipids and forages interactions on cow and goat milk fatty acid composition and sensory Properties. **Reproduction nutrition development.*** Champanelle, França, v.44, p.467–492, 2004. Disponível em: <https://rnd.edpsciences.org/articles/rnd/pdf/2004/06/R4504.pdf>. Acesso em: 04/11/2022.

CHRISTIE, W.W. ***Lipid analysis: Chromatographic and spectroscopic analysis of lipids: general principles.*** 2.ed. Oxford: Pergamon Press, 1982. cap.3, p.25- 49.

CORTEZ, Diana. **Qual é o melhor requeijão?** São Paulo. UOL, 2021. Disponível em: <https://www.uol.com.br/vivabem/reportagens-especiais/quais-os-melhores-requeijos-cremes-de-queijos-e-pates-do-supermercado/#cover>. Acesso em: 12/09/2022.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema.** 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 900 p.

FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G.H.S. ***A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues.*** *Journal of Biological Chemistry*, v.226, n.1, p.497-509, 1957.

GOMES, J. C *et al.* Substituto de gordura à base de proteína. **Revista Ceres.** Viçosa, v. 55, nº 6, p. 543 - 550, 2008. Disponível em: <http://www.ceres.ufv.br/ceres/revistas/V55NO06P36408.pdf>. Acesso: 10/09/2022.

GONZALEZ, F.H.D.; DURR, J.W.; FONTANELI, R.S. **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras.** Porto Alegre. UFRGS, 2001. Disponível em: <https://www.ufrgs.br/lacvet/restrito/pdf/leite%20metabolismo.pdf>. Acesso em: 28/10/2022.

GUERRA, Ingrid C. D. *et al.* **Análise comparativa da composição centesimal de leite bovino, caprino e ovino.** João Pessoa. UFPB - PRG, 2008. Disponível em: <http://www.prac.ufpb.br/anais/IXEnex/iniciacao/documentos/anais/6.SAUDE/6CCSD NMT10.pdf>. Acesso em: 25/10/2022.

GURR, M.I. ***Role of fats in food and nutrition: Extraction and measurement of total fat in foods.*** 2.ed. London: Elsevier Science Publishers,1992.

GUSSO, Ana Paula *et al.* Comparação de diferentes métodos analíticos para quantificação de lipídios em creme de ricota. **Revista Instituto de Laticínios.** Cândido

Tostes, v.67, nº 389, p. 51-55, Nov/Dez, 2012. Disponível em: <https://www.revistadoilct.com.br/rilct/article/view/226/236>. Acesso em: 06/11/2022.

GUSSO, A. P. **Diferentes espessantes, níveis de gordura e lactosoro em creme de ricota**. Santa Maria. Universidade Federal de Santa Maria, 2013. Disponível em: <https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/5729/GUSSO%2c%20ANA%20PAULA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 25/10/2022.

HARA, A; RADIN N.S. *Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent*. **Analytical Biochemistry**. Michigan, v.90, p. 420-426, 1978. Disponível em: <https://deepblue.lib.umich.edu/bitstream/handle/2027.42/22520/0000064.pdf?sequence=1>. Acesso em: 04/11/2022.

JORGE, Neuza. **Química e tecnologia de óleos vegetais**. São Paulo: Cultura Acadêmica: Universidade Estadual Paulista, Pró-Reitoria de Graduação, 2009. https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/45602240/Quimica_e_Tecnol_de_oleos_Vegetais-with-cover-page-v2.pdf?Expires=1667609840&Signature=VSqMwePg~uePmp7nOIkM7uE6IHkZ3XX7EvVtbizJvdgTxY1xM4xbXdg2QULyTOKTxarBqeX6Hnlebyb85rKrF7aMyFyV3NxrTKBYkVw68y-D6DuRjZYPERZVeP9M8t4jgfMSqPsYAruh7cr0NCvxDSWX~J-Ru0ZBOQbRxPZje3~vD1tLdnSwV-mZL~2G5ueBNuJYSJpiuPi4pWsxMSspIVpXMnliRM6y3WM-zxsU9yf-oTdVzBs~1YMHzrbklxcBxOqwzruQMPxU5RegilnpTpZpwOhJwjiAIOQyJE8doCz3A0XIOBF0HdZ8S3DUyr2cuUIUvIWqXNyzxYyDZnpGcQ_____&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA. Acesso em: 01/08/2022.

JUN, André *et al.* **Lipídios, Ácidos Graxos e Fosfolipídeos**. São Paulo. Universidade de São Paulo, 2016. Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/2274192/mod_resource/content/0/Resumo_08_Gr10.pdf. Acesso em: 04/09/2022.

JUNIOR, D.M.L. *et al.* Oxidação lipídica e qualidade da carne ovina. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.7, n.1 p.14-28, 2013. Disponível em: [https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/acta-veterinaria-brasilica/7-\(2013\)-1/oxidacao-lipidica-e-qualidade-da-carne-ovina/](https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/acta-veterinaria-brasilica/7-(2013)-1/oxidacao-lipidica-e-qualidade-da-carne-ovina/). Acesso em: 05/11/2022.

LASZLO, Herta; BASSO, Lídia Maria; COELHO, Claudia Maria de L. **Química de alimentos: Alteração dos componentes orgânicos**. São Paulo: Nobel, 1986.

LEOPOLDO, Paulo de Tarso Goncalves. **Bioquímica**. São Cristóvão. CESAD, 2009. Disponível em: https://cesad.ufs.br/ORBI/public/uploadCatalogo/11283216022012Bioquimica_aula_9.pdf. Acesso: 04/09/2022.

MADUREIRA, PLÍNIO MAGALHÃES. **Caracterização do perfil de ácidos graxos em leite de cabra por diferentes métodos de extração de gordura ou por metilação direta**. Viçosa. Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Agrícola da Universidade Federal de Viçosa, 2011. Disponível em: locus.ufv.br/bitstream/123456789/2440/1/texto%20completo.pdf. Acesso em: 06/11/2022.

MARQUES, Maria R.F. **Bioquímica**. 1.ed. Florianópolis: Biologia/EAD/UFSC, 2014.

MARTINEZ, Junio Cesar. **O perfil de ácidos graxos da gordura do leite é importante?** MILKPOINT, 2009. Disponível em: <https://www.milkpoint.com.br/artigos/producao-de-leite/o-perfil-de-acidos-graxos-da-gordura-do-leite-e-importante-53030n.aspx#>. Acesso em: 05/11/2022.

OLIVEIRA, A.A. *et al.* **Composição dos ácidos graxos**. Dracena. UNESP, 2011. Disponível em: https://www.dracena.unesp.br/Home/Eventos/SICUD192/Composicao_dos_acidos_graxos_na_carne.pdf. Acesso em: 05/11/2022.

RIBEIRO, A. C. *et al.* **Controle microbiológico da vida de prateleira de ricota cremosa**. Lavras. Scielo, 2005. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cagro/a/qC6ZrjLGBThM9dNkHW3Js3f/?lang=pt>. Acesso em: 25/10/2022.

RIBEIRO, Eliana Paula; SERAVALLI, Elisena A.G. **Química de alimentos**. 2.ed. São Paulo: Editora Blucher, 2007.

ROQUE, R.A.; SCHUMACHER, S.S.P.; PAVIA, P.C. Quantificação dos microorganismos psicotrópicos em leites pasteurizados tipo B e C, comercializados na cidade de São Paulo, SP. **Higiene Alimentar**. São Paulo, v.17, n. 112, p. 59-68, set, 2003. Disponível em: <https://higienealimentar.com.br/112-2/>. Acesso em: 05/11/2022.

RYDLEWSKI, A. A. *et al.* Métodos analíticos utilizados para a determinação de lipídios em leite humano: Uma Revisão. **Revista Virtual de Química**. São Paulo, v.12, nº1, p. 1-18, Fevereiro / 2020. Disponível em: <http://static.sites.s bq.org.br/rvq.s bq.org.br/pdf/rvq-040220-a1.pdf>. Acesso: 01/08/2022.

SHAHIDI, F.; WANASUNDARA, J.P.D. **Extraction and analysis of lipids**. In: AKOH, C.C; MIN, D.B. **Food lipids: chemistry, nutrition and biotechnology**. 2.ed. New York: Marcel Dekker, 1998.

SOARES, Frederico A.C. **Composição do leite: fatores que alteram a qualidade química**. Rio Grande do Sul. UFRGS, 2013. Disponível em: <https://www.ufrgs.br/lacvet/site/wp-content/uploads/2013/10/leiteFred.pdf>. Acesso em: 25/10/2022.

SOUZA, M. R.; MORAIS, C. F. de A.; CORRÊA, E. S.; RODRIGUES, R. Características físico-químicas de ricotas comercializadas em Belo Horizonte, MG. Belo Horizonte. **Revista Higiene Alimentar**. v. 14, p. 68-71, 2000. Disponível em: <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IscScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=264107&indexSearch=ID>. Acesso: 25/10/2022.

SOUZA, K.A.F.D.; NEVES, V.A. **Experimentos de bioquímica**. Araraquara. UNESP, s.d. Disponível em: http://www.fcfar.unesp.br/alimentos/bioquimica/introducao_lipidios/classes_lipidios.htm. Acesso: 04/11/2022.

TONIAL, Ivane Benedetti *et al.* Avaliação de diferentes métodos de extração lipídica sobre a composição de ácidos graxos poli-insaturados em leite de vaca. **Archivos latinoamericanos de nutrición**. Maringa, v. 59, nº 1, p. 78-81. 2009. Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/1214992/mod_resource/content/1/Tonial%202009.pdf. Acesso em: 01/08/2022.