

Análise do ácido linoléico conjugado em carne bovina por RMN

Introdução

A carne bovina contém quantidade satisfatória de Ácido Linoléico Conjugado ou CLA* que está relacionado com uma série de efeitos benéficos à saúde (OLIVO, 2004; PARIZA et al., 1979).

Pariza et al. (1979) reportaram pela primeira vez a presença de CLA em carne bovina. Com a evolução das pesquisas, Pariza et al. (1983) analisaram e subsequentemente identificaram o CLA como um componente com atividade antitumoral e presente na carne de ruminantes, independente do seu aquecimento e armazenamento.

Vários estudos mostram que o CLA possui atividade anticarcinogênica, antidiabética, reduz a massa corporal gorda e reduz o desenvolvimento de aterosclerose em animais modelos, bem como em seres humanos (OLIVO, 2004). Apesar dos inúmeros benefícios relacionados à saúde, a dose ingerida necessária para exercer tais benefícios ainda precisa ser estabelecida (CHIN et al., 1992).

Ingle et al. (1972) relataram que o valor de CLA encontrado nos alimentos é relativamente baixo, havendo a necessidade de implantação de melhores estratégias para aumentar a produção desse ácido graxo nos animais ruminantes. Fatores como o sexo, a idade e a raça do animal são fatores que influenciam na quantidade de CLA, entretanto a dieta é que fornece o substrato para a formação de CLA. Desta forma a dieta é considerada o fator principal que influencia no depósito de CLA pelos ruminantes e consequentemente a biodisponibilidade ao consumidor.

Atualmente o método padrão para a determinação de CLA é o método de cromatografia gasosa dos ésteres metílicos dos ácidos graxos, preparados pela reação de transesterificação. No entanto, esse método envolve várias etapas, havendo a necessidade de etapas de derivatização e purificação antes da análise cromatográfica.

Neste trabalho foi desenvolvido um método alternativo de determinação de CLA em gordura de carne bovina por RMN de ^1H , o qual não necessita das etapas de derivatização e purificação. Para disponibilizar a metodologia foi necessário a otimização das condições experimentais de RMN e a validação do método.

Materiais e Métodos

A amostra padrão do ácido linoléico conjugado comercial foi obtida da Sigma-Aldrich (05507-1G). As amostras de carne bovina, provenientes de bovinos machos, foram adquiridas em estabelecimentos comerciais da cidade de São Carlos-SP. Analisaram-se cortes de carne de peito, costela do traseiro, contra-filé, picanha, alcatra, coxão mole, lagarto, coxão duro e patinho.

Os espectros de RMN em alta resolução foram adquiridos em um espectrômetro Varian, modelo Inova 400, com ímã de 9,4 Tesla, equivalente às frequências de 400 MHz para o ^1H e 100 MHz para ^{13}C , empregando-se uma sonda de 5 mm de diâmetro.

As análises cromatográficas das amostras de carne bovina foram realizadas na Universidade Estadual Paulista Campus de Jaboticabal (Departamento de Tecnologia - FCAV/UNESP) no laboratório de bioquímica de microrganismos e plantas.

*do inglês conjugated linoleic acid

São Carlos, SP
Novembro, 2009

Autores

Roberta Manzano Maria,
Farmácia,
Instituto de Química de São Carlos
IQSC/ USP,
robmmaria@gmail.com

Luiz Alberto Colnago,
Farmácia, Dr., Pesquisador,
Embrapa Instrumentação
Agropecuária, C.P. 741,
CEP 13560-970, São Carlos, SP,
colnago@cnpdia.embrapa.br

Lucimara Aparecida Forato,
Química, Dra., Pesquisadora,
Embrapa Instrumentação
Agropecuária, C.P. 741,
CEP 13560-970, São Carlos, SP,
lucimara@cnpdia.embrapa.br

Foto: Luiz Alberto Colnago



Resultados e Discussão

No espectro de RMN de ^1H da gordura intramuscular obtida de uma amostra de contra-filé (Fig. 1) são observados os deslocamentos químicos típicos de gordura bovina: os hidrogênios dos grupos metilas terminais dos ácidos graxos em 0,92 ppm (1) os hidrogênios dos grupos metilenos em 1,33 ppm (2), bem como o 3 ao 5; os hidrogênios ligados aos carbonos 1 e 3 do glicerol (6) em 4,12 e 4,31 ppm; o hidrogênio ligado ao carbono 2 do glicerol (7) em 5,30 ppm e os hidrogênios ligados aos carbonos insaturados (8) em 5,34 ppm.

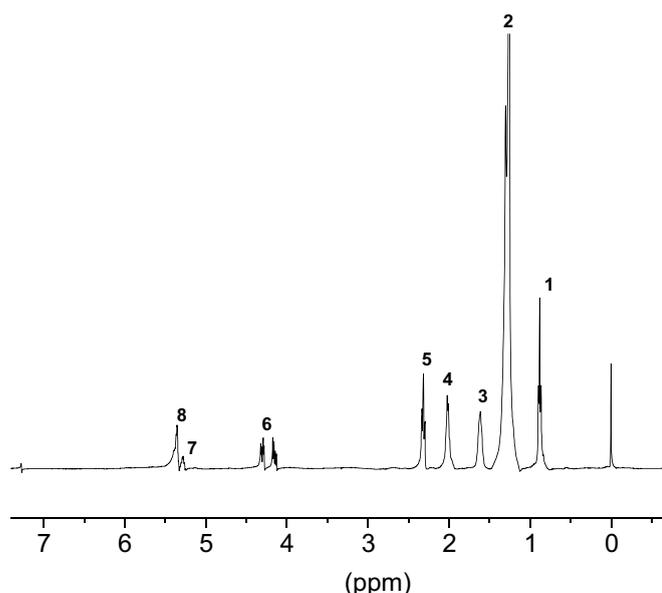


Fig. 1. Espectro de RMN de ^1H de gordura intramuscular extraída em CDCl_3 de uma amostra de contra-filé.

Para a observação dos sinais dos hidrogênios dos carbonos insaturados do CLA foi necessário fazer uma ampliação dos espectros de RMN das amostras analisadas na região de 5 a 6,5 ppm (Fig. 2a e b). Nesta figura pode-se ver que os hidrogênios ligados aos carbonos insaturados encontram-se em 6,30, 5,94 e 5,69 ppm. O sinal que seria esperado em 5,32 ppm não pode ser identificado na gordura bovina, pois se sobrepõe aos sinais dos outros ácidos graxos presentes na amostra.

Para a análise do teor de CLA em gordura bovina pelos espectros de RMN de ^1H , integrou-se os sinais do glicerol em 4,12 e 4,31 ppm aos quais foi atribuída uma área relativa igual a 100. Com isso, integrou-se os sinais encontrados em 5,9 e 6,3 ppm. As áreas medidas desses dois sinais foram usadas nas medidas quantitativas.

Para verificar a capacidade de análise do teor de CLA por RMN de ^1H , compararam-se os resultados dessas medidas com os obtidos pelo método tradicional de cromatografia gasosa. Os valores obtidos por ambas as técnicas estão representada no gráfico da Figura 3.

De acordo com o gráfico da Figura 3, pode se verificar que as duas técnicas resultam em valores compatíveis, apresentando uma correlação satisfatória ($R = 0,97$). Dessa forma, a RMN de ^1H que é realizada em alguns minutos para a análise, apresentou-se como um método alternativo confiável, rápido e simples para a determinação do teor de CLA nas amostras de carne bovina.

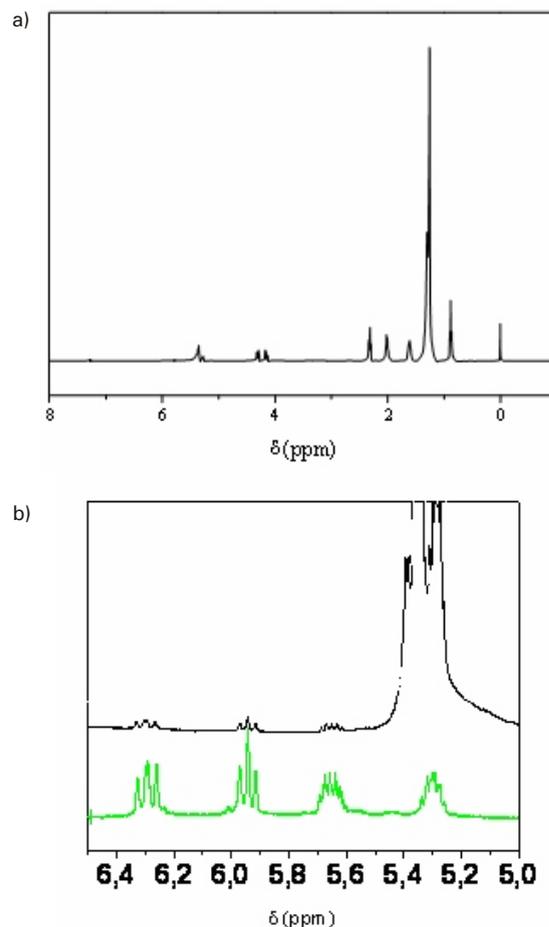


Fig. 2. Espectro de RMN de ^1H da gordura extraída do contra-filé (a) e a expansão da região de 5,0 a 6,5 ppm, na qual é possível observar os sinais característicos do CLA (b) : na amostra analisada (acima) e na amostra padrão (abaixo).

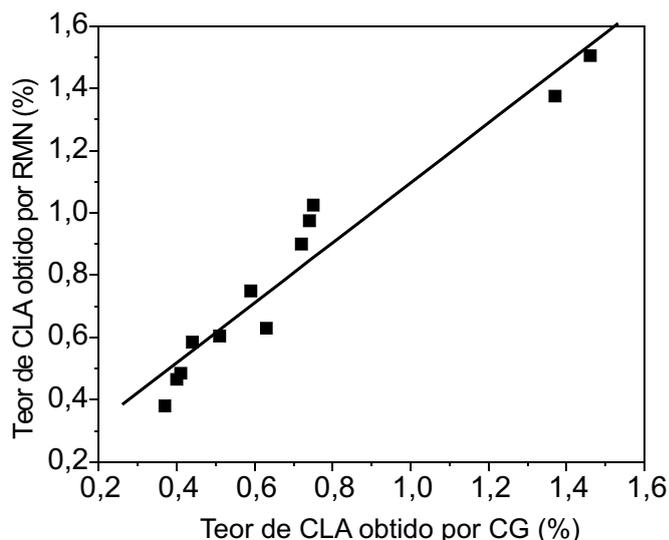


Fig. 3. Correlação linear entre os métodos de CG e RMN de ^1H para determinação do teor de CLA em carne bovina. $R = 0,97$

Conclusão

O trabalho mostrou a viabilidade do emprego de nova metodologia de RMN de ^1H para a determinação do teor de CLA em carne bovina. O resultado proporcionado pelo

método desenvolvido tem alta correlação com os de cromatografia gasosa e é um método bem mais rápido e simples do que este último para a determinação do teor de CLA.

Referências

CHIN, S. F.; LIU, W.; STORKSON, J. M.; HÁ, Y. L.; PARIZA, M. W. Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 5, p. 185-197, 1992.

INGLE, D. L.; JOHNSON, D. E.; BAUMAN, D. E.; MELLENEBE, R. W. Lipogenesis and lipolysis of sheep adipose-tissue during fattening. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 74, p. 203, 1972.

OLIVO, R. Carne bovina e saúde humana. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, v. 332, 2004.

PARIZA, M. W.; LORETZ, L. J.; STORKSON, J. M. ; HOLLAND, N. C. Mutagens and modulador of mutagens in fried ground beef. **Cancer Research**, Baltimore, v. 43, p. 2444s-2446s, 1983.

PARIZA, M. W.; ASHOOR, S. H.; CHU, F. S.; LUND, D. B. Effect of temperature and time on mutagen formation in pan-fried hamburger. **Cancer Letters**, Amsterdam, v. 7, p. 63-69, 1979.

Circular Técnica, 49

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Instrumentação Agropecuária
Rua XV de Novembro, 1542 - Caixa Postal 741
CEP 13560-970 - São Carlos-SP
Fone: 16 2107 2800 - **Fax:** 16 2107 2902
e-mail: sac@cnpdia.embrapa.br
<http://www.cnpdia.embrapa.br>

1a. edição

1a. impressão 2009: tiragem 300

Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento



Comitê de Publicações

Presidente: Dr. Luiz Henrique Capparelli Mattoso
Membros: Dra. Débora Marcondes B. P. Milori,
Dr. João de Mendonça Naime,
Dr. Washington Luiz de Barros Melo
Valéria de Fátima Cardoso

Membro Suplente: Dr. Paulo S. P. Herrmann Junior

Expediente

Supervisor editorial: Dr. Victor Bertucci Neto
Normalização bibliográfica: Valéria de Fátima Cardoso
Tratamento das ilustrações: Valentim Monzane
Editoração eletrônica: Manoela Campos