

Determinação do teor de lipídios em biomassa e produtos comerciais por espectroscopia de fluorescência.

Fernanda de A. F. Lima¹ (PG), Grasielle Saltorelli^{1*} (IC), Ana Paula C. Luiz¹ (IC), Helder R. da Silva² (PG), Diva de S. Andrade³ (PQ), Carmen L. B. Guedes¹ (PQ) carmen@uel.br

¹ Universidade Estadual de Londrina – UEL, Rodovia Celso Garcia Cid, Km 380 - Campus Universitário - 86051-980 – Caixa Postal 6001 - Londrina – PR

² Universidade Estadual do Norte do Paraná – UENP, Rua Padre Melo, 1200 - 86400-000 – Jacarezinho - PR

³ Instituto Agrônomo do Paraná – IAPAR, Rodovia Celso Garcia Cid, km 375 - Três Marcos - 86047-902 - Caixa Postal 481 - Londrina – PR

Palavras Chave: Método Folch, Método Bligh & Dyer, *nile red*.

Introdução

A análise de lipídios por emissão de fluorescência vem sendo utilizada para avaliar o teor lipídico em células eucariontes e procariontes. Algumas vantagens de uso da técnica de fluorescência estão no tempo reduzido de análise, na utilização de pequenas quantidades de amostra e solvente. No ensaio é utilizado o corante *nile red* que é seletivo para lipídios neutros, hidrofóbico e fluorescente¹. O objetivo deste trabalho é comparar os métodos convencionais, aceitos pela AOAC, para determinação de lipídios com a técnica alternativa de emissão por fluorescência.

Resultados e Discussão

Os métodos de *Folch, Less & Stanley*²; *Bligh & Dyer*³; e ainda, a análise por emissão de fluorescência utilizando o corante *nile red* foram testados para determinação de lipídios no milho, farelo de soja, caroço de algodão e margarina comercial. As análises por emissão de fluorescência foram realizadas em Espectrofluorímetro Shimadzu RF5301 PC e a trioleína foi utilizada como padrão de lipídio. Observou-se correlação linear entre intensidades relativas de fluorescência e as concentrações de trioleína. O tempo de reação do *nile red* com a trioleína foi determinado pela intensidade relativa de fluorescência (Fig. 1). O teor de lipídio nas amostras encontra-se na tabela 1.

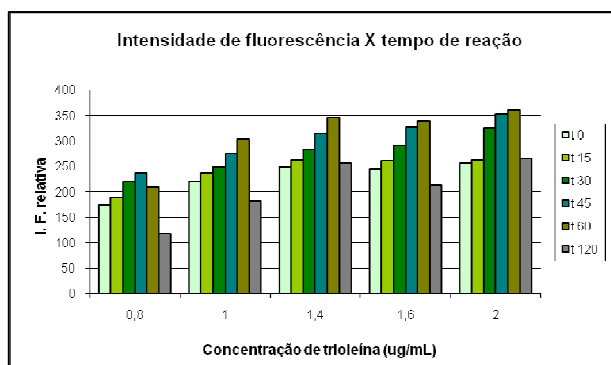


Figura 1. Intensidade relativa de fluorescência da trioleína + *nile red* em função do tempo de reação.

Tabela 1. Teor de lipídios (%) e método utilizado.

AMOSTRA	Folch	Bligh & Dyer	Fluorescência
Milho	3,7 ± 0,3	3,4 ± 0,1	3,6 ± 0,2
Farelo de soja	2,6 ± 0,2	2,3 ± 0,1	2,3 ± 0,1
Caroço de algodão	23,2 ± 0,9	23,1 ± 0,2	23,9 ± 0,1
Margarina A	38,9 ± 0,9	41,1 ± 0,9	39,9 ± 0,2
Margarina B	68,6 ± 0,6	65,0 ± 0,8	64,6 ± 0,4
Margarina C	18,9 ± 0,5	22,2 ± 0,9	20,8 ± 0,7

As metodologias existentes para a determinação de lipídios exigem grande quantidade de biomassa, extração com solventes e gravimetria. A espectrofluorimetria mostrou-se uma técnica rápida, simples e sensível para o monitoramento de lipídios totais utilizando a sonda fluorescente *nile red*.

Conclusões

Neste estudo foram determinadas as condições (seleção de λ e a sensibilidade) para quantificação de fluorescência de lipídios, método este que pode ser aplicado a vários tipos de biomassa, como por exemplo, microalgas. As porcentagens de lipídios determinadas através de métodos convencionais acreditados foram comparadas aos percentuais determinados por emissão de fluorescência e os resultados foram equivalentes.

Agradecimentos

CAPES, CNPq, COPEL e Petrobras.

¹Cooksey, K. E.; Guckert, J. B.; Williams, S. A.; Callis, P.R. *J. Microbiol. Meth.* **1987**, *6*, 333.

²Folch, J.; Lees, M.; Stanley, G. H. S. *Journal of Biology Chemistry.* **1956**, *226*, 497.

³Bligh, E.G.; Dyer, W. J. *Can. J. Biochem. Physiol.* **1959**, *37*, 911.