

# Aula 10

## LIPÍDIOS EXPERIMENTAL

### **META**

Apresentar ao aluno os lipídios no laboratório.

### **OBJETIVOS**

Ao final desta aula, o aluno deverá: saber identificar um lipídio no laboratório. Saber diferenciar entre lipídio saponificável e insaponificável. Conhecer os triacilgliceróis e as lecitinas.

### **PRÉ-REQUISITOS**

Aula 09 de lipídios, reações de ésteres, saponificação. Química orgânica experimental.

**André Luís Bacelar Silva Barreiros**  
**Marizeth Libório Barreiros**

## INTRODUÇÃO

Olá aluno, na aula anterior você foi apresentado aos lipídios. Você aprendeu sobre as suas estruturas e propriedades, conheceu as suas diferentes classes, e foi introduzido às suas reações. Nesta aula vamos aprender a trabalhar com eles no laboratório. Aprender a identificar um lipídio saponificável. A detectar a presença de ácidos graxos. Além de extrair e caracterizar as lecitinas da gema de ovo.

Vamos começar então? Mãos a obra!

## TRIACILGLICERÓIS

Os lipídios formam uma classe diversa de biomoléculas, que tem em comum a sua insolubilidade em água e sua solubilidade em solventes orgânicos apolares como clorofórmio, diclorometano, éter e benzeno. Grande parte dos lipídios apresenta ácidos graxos como componentes de sua estrutura, dentre eles as ceras, triacilgliceróis, fosfolipídeos e glicolipídeos. Estes compostos quando aquecidos em presença de base forte (NaOH ou KOH) sofrem hidrólise produzindo sais de sódio ou potássio de ácidos graxos (sabões). Por esse motivo são denominados de lipídios saponificáveis (Figura 1).

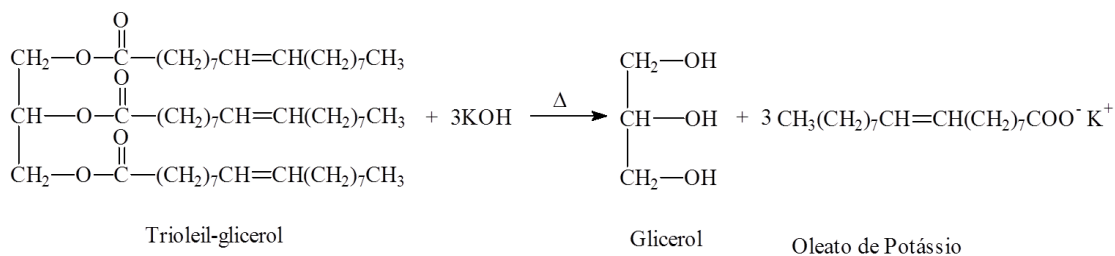


Figura 01 - Reação de saponificação.

Fonte: Desenhado pelo autor com o programa ChemWindows.

Os sabões são moléculas anfipáticas, ou seja, possuem uma cabeça polar e um cauda apolar. Devido a esta característica, em soluções aquosas eles formam micelas, com as caudas apolares voltadas para dentro e as cabeças polares em contato com a água (Figura 2). Na superfície da água as moléculas de sabão se orientam com as cabeças para dentro da água e as caudas para fora, o que diminui a tensão superficial da água. Os sabões também possuem propriedades emulsificantes, pois suas caudas apolares dissolvem a gordura e suas cabeças polares se dissolvem na água, produzindo gotículas carregadas que se dissolvem em água, o que auxilia na lavagem.

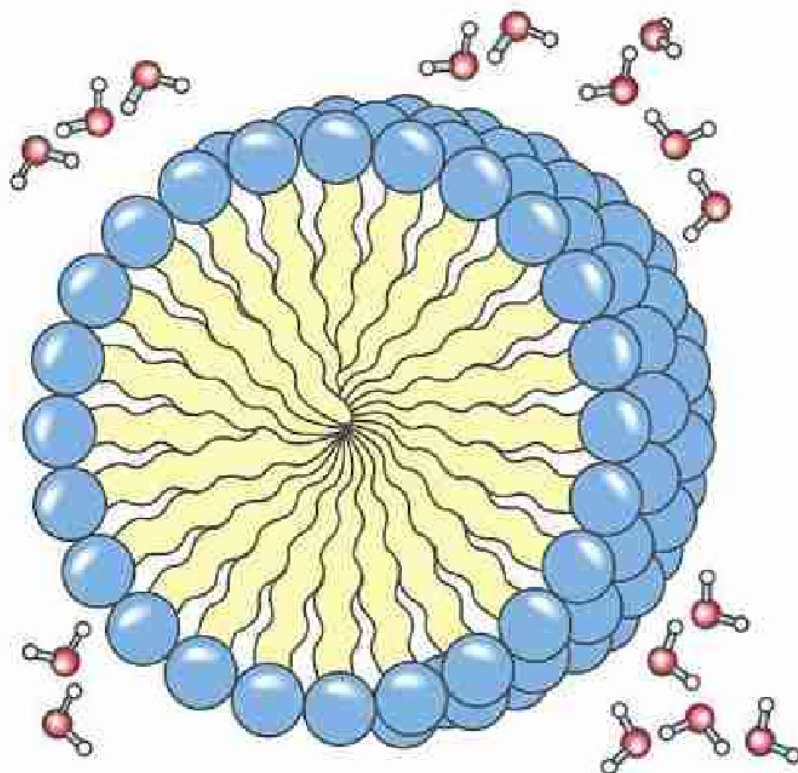


Figura 02 - Micela.

Fonte: <http://centros5.pntic.mec.es/ies.victoria.kent/Rincon-C/Curiosid/RC-46/micelas.JPG>

Por fim, os ácidos graxos dos sabões podem precipitar pela adição de ácidos fracos como o ácido acético, pois o ácido graxo é insolúvel em água, ou pela adição de sais de cálcio ou magnésio, pois estes formam sais insolúveis com os ácidos graxos.

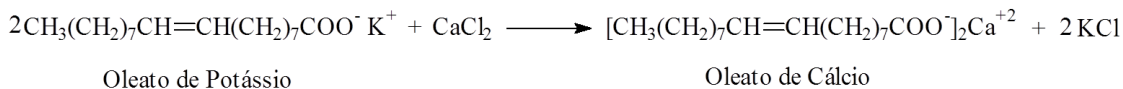
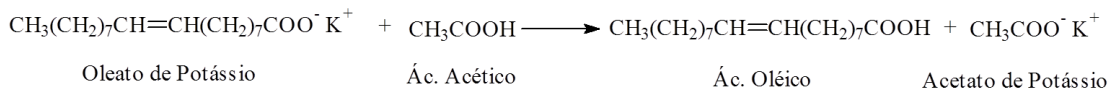


Figura 03 - Precipitação de ácidos graxos e de sabões de cálcio.

Fonte: Desenhado pelo autor com o programa ChemWindows.



### ATIVIDADES

#### Saponificação e caracterização de triacilgliceróis

##### Materiais:

- Tubo de ensaio grande
- Conta-gotas
- Béquer 500 mL
- Pérolas de vidro
- Chapa de aquecimento
- Pipeta graduada 10 mL
- 4 Tubos de ensaio
- Bancada para tubos de ensaio

##### Reagentes:

- Óleo de soja
- Hidróxido de potássio 40%
- Etanol
- Água destilada
- Ác. Acético glacial
- Cloreto de cálcio 10%
- Solução saturada de cloreto de sódio

##### Procedimento

Em um tubo de ensaio grande adicione 15 gotas de óleo de soja e 5,0 mL de solução de potassa alcoólica. Adicione pérolas de vidro para evitar ebulição tumultuosa e aqueça em banho-maria fervente por 30 min. Resfrie o tubo, dilua com 4,0 mL de água e transfira igualmente para 4 tubos de ensaio. (Solução de potassa alcoólica: misturar volumes iguais de KOH 40% e etanol).

Teste de abaixamento da tensão superficial: No tubo 1 adicione 2,0 mL de água e agite bem a solução. O aparecimento de espuma indica a presença do sabão pelo abaixamento da tensão superficial.

Precipitação de ácidos graxos: No tubo 2 adicione gota a gota ácido acético glacial até não haver mais formação de precipitado branco. O precipitado são os ácidos graxos.

Precipitação de sabões de cálcio: No tubo 3 adicione cloreto de cálcio 10% gota a gota até o aparecimento de um precipitado branco. O precipitado é um sabão de cálcio.

Precipitação de sabão por excesso de eletrólitos: No tubo 4 adicione igual volume de solução saturada de cloreto de sódio. Observe a precipitação do sabão.

## COMENTÁRIO SOBRE AS ATIVIDADES

O óleo de soja é composto de lipídios, majoritariamente triacilgliceróis, com uma pequena percentagem de ácidos graxos livres e esteróides (fitosteróides). Ao reagir com a potassa alcoólica, os triacilgliceróis são saponificados formando um sal de potássio dos ácidos graxos e o glicerol. Os ácidos graxos livres também são convertidos em sabões. Ao adicionar água e agitar observamos a redução da tensão superficial da água, o que permite a formação da espuma. Adicionando ácido acético os ácidos graxos, insolúveis em água, são precipitados. O mesmo ocorre ao adicionarmos cloreto de cálcio, pois os sais de cálcio dos ácidos graxos (sabões de cálcio) são insolúveis em água. Por fim, a adição de solução saturada de cloreto de sódio causa precipitação devido ao aumento da força iônica, gerando um efeito “*salting-out*”.



Figura 04 - Resultado dos testes para ácidos graxos.  
Fonte: Fotos tiradas pelo autor.

## LECITINAS

As lecitinas são uma classe de fosfolipídios constituída de dois ácidos graxos, glicerol, ácido fosfórico e um álcool aminado (colina) (Figura 5). Uma das fontes de lecitina em nossa alimentação é a gema de ovo, podendo esta ser extraída por tratamento com acetona e em seguida clorofórmio. A acetona serve para desnaturar as proteínas e extrair os pigmentos presentes na gema, além dos outros lipídios presentes, com exceção dos fosfolipídios. O tratamento do precipitado restante com clorofórmio permite obter a lecitina. A hidrólise básica da lecitina libera sais de ácidos graxos (sabões), glicerol, fosfato e colina (Figura 6).

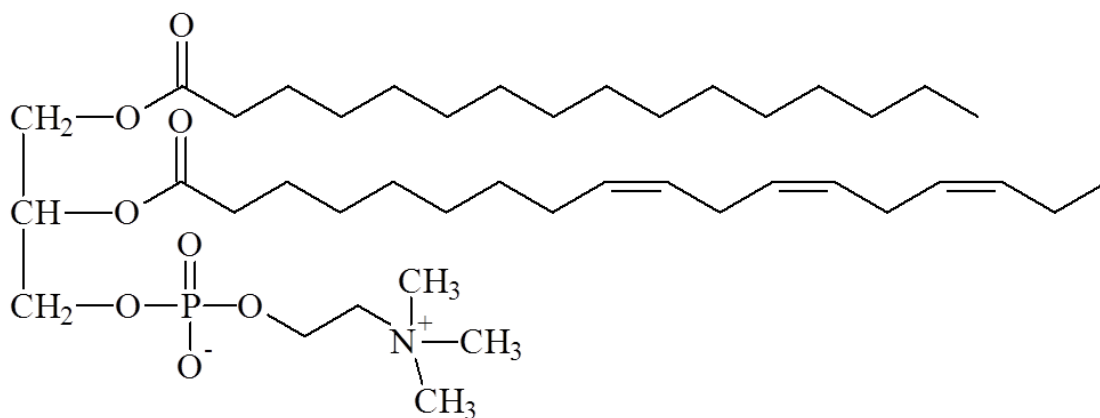


Figura 05 - Lecitina.

Fonte: Desenhado pelo autor com o programa ChemWindows.

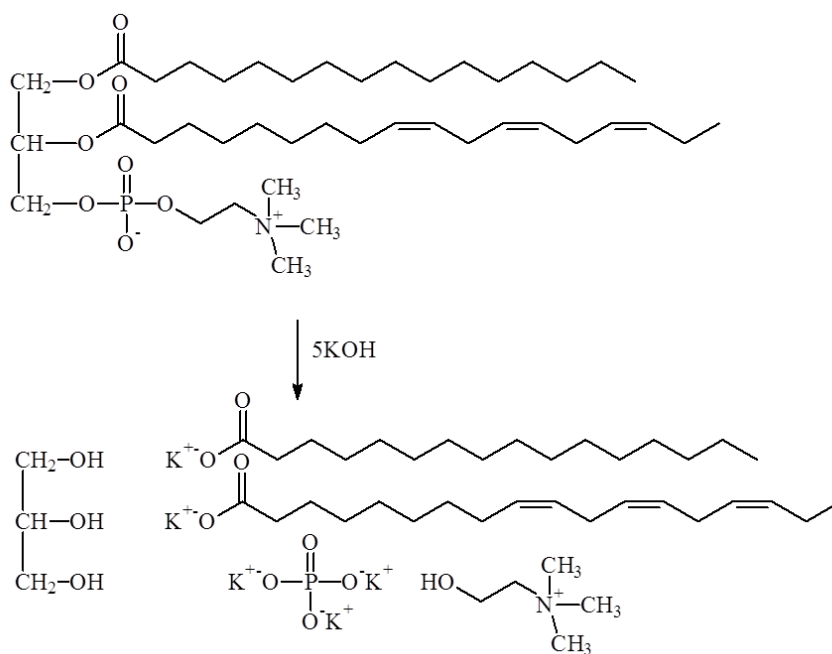


Figura 06 - Hidrólise básica da Lecitina.

Fonte: Desenhado pelo autor com o programa ChemWindows.



## ATIVIDADES

Isolamento e caracterização da Lecitina da gema de ovo

### Materiais:

- Béquer 250 mL
- Bastão de vidro
- Funil de Buchner
- Kitassato
- Adaptador de borracha
- Bomba de vácuo
- Papel de filtro
- Béquer 100 mL
- Proveta 100 mL
- Funil
- Tubo de ensaio grande
- Béquer 500 mL
- Chapa de aquecimento
- Lâminas de vidro
- Tubo de ensaio
- Pegador para tudo de ensaio
- Freezer

### Reagentes:

- 1 Gema de ovo
- Acetona
- Clorofórmio
- Água destilada
- Etanol
- Hidróxido de sódio 10 mol/L (40%)
- Ácido acético glacial
- Reagente de Lugol
- Molibdato de amônio em ácido sulfúrico (25g/L em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1,5 mol/L)

### Procedimento

Extração: Coloque 1 gema de ovo num béquer de 250 mL e adicione 30 mL de acetona. Misture fortemente com um bastão de vidro e deixe em repouso por 5 min. Filtre a vácuo e despreze o filtrado. Retorne o sólido para o béquer, adicione mais 20 mL de acetona e misture vigorosamente. Deixe decantar, filtre a vácuo e despreze o filtrado. Repita esta operação até o sólido ficar esbranquiçado. Na última vez filtre a vácuo e depois espalhe o sólido sobre o papel de filtro com o auxílio do bastão de vidro para secar. Transfira o sólido seco para um béquer de 100 mL seco, adicione 20 mL de CHCl<sub>3</sub>, agite bem e filtre por gravidade, com papel de filtro pregueado recolhendo o filtrado em um tubo de ensaio grande. Retorne o precipitado para o béquer, adicione mais 10 mL de CHCl<sub>3</sub>, agite e filtre para o mesmo tubo. Despreze o precipitado restante. Evapore o CHCl<sub>3</sub> na capela em banho-maria. O líquido restante é a lecitina parcialmente pura.

Caracterização: Adicionar 10,0 mL de etanol ao líquido obtido da extração (lecitina) e adicionar 10,0 mL de NaOH 10 mol/L. Aquecer em banho-maria fervente por 15 min, agitando de vez em quando com bastão de vidro. Resfriar, adicionar 10 mL de água destilada e ácido acético glacial até pH ácido (cerca de 5,0 mL). Reaquecer por 1 min e filtrar ainda quente. Os ácidos graxos devem ficar retidos no papel. O filtrado contém colina, fosfato e glicerol. Para detectar a colina pingue 1 gota do filtrado numa lâmina de vidro, e sobre esta 1 gota de lugol. Cubra com outra lâmina e leve ao freezer por 10 min. A presença de colina é detectada pela formação de cristais (cristais de Florence). Para detectar a presença de fosfato coloque 3,0 mL do filtrado num tubo de ensaio e adicione 1,0 mL de solução de molibdato de amônio em ácido sulfúrico (25g/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1,5 mol/L). Aqueça em banho-maria por 5 min e verá a formação do fosfomolibdato de amônio que é um precipitado amarelo.

### COMENTÁRIO SOBRE AS ATIVIDADES

A acetona remove compostos mais polares como as xantofilas que dão a coloração da gema de ovo, ao mesmo tempo em que desnaturam as proteínas formando um precipitado branco. A lecitina encontra-se no meio desse precipitado e pode ser extraída com clorofórmio devido à sua polaridade. A reação de saponificação forma os sais de ácidos graxos (sabões) e o glicerol, entretanto diferente dos triacilgliceróis produz também fosfato de sódio e colina. A colina forma cristais de Florence ao reagir com o iodo, que precipitam a baixas temperaturas. Já o fosfato reage com o molibdato de amônio em meio ácido, formando o fosfomolibdato de amônio.

### ESTERÓIDES

Os esteróides são uma classe de lipídios insaponificáveis, ou seja, não reagem com base dando sabão. O óleo de soja contém fitoesteróides, dentre eles se destacando o estigmasterol (Figura 7). O estigmasterol é um esteróide vegetal presente em diversas espécies, sendo tão amplamente distribuído que é comumente isolado por todos os fitoquímicos. Por ser tão comum muitos brincam considerando como um rito de passagem, dizendo: “Quem nunca isolou o sitosterol e o estigmasterol ainda não é um fitoquímico”. Foi isolado pela primeira vez das sementes de *Phisostigma venenosum* (Fava de Calabar), e outras fontes abundantes são grãos de soja, óleo de café, folhas de tabaco, dentre outras. A soja apresenta além do estigmasterol, pequenas quantidade de  $\beta$ -sitosterol e campesterol.



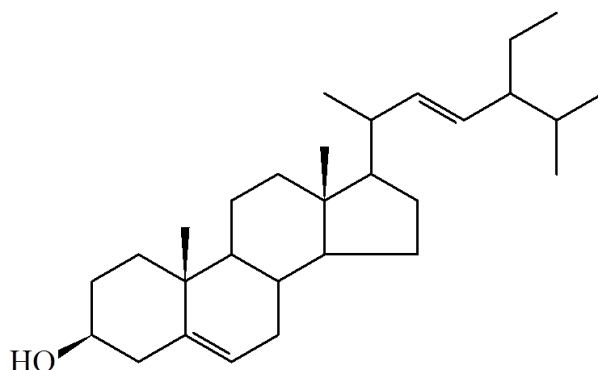


Figura 07 - Estigmasterol.

Fonte: Desenhado pelo autor com o programa ChemWindows.

O estigmasterol pode ser obtido a partir do óleo de soja através de saponificação dos triacilgliceróis, seguida de extração com éter do material insaponificável. O éter então é removido a pressão reduzida e substituído por éter de petróleo (ou hexano) saturado com vapor d'água, levando os esteróides a precipitar. A mistura bruta de esteróides pode então ser purificada por cromatografia em coluna.



### Isolamento do Estigmasterol do Óleo de Soja

#### Materiais:

- Balança semi-analítica
- Balão de fundo redondo 1,0 L
- Condensador de bola
- Manta de aquecimento
- Mangueiras
- Funil de separação 250 mL
- Agitador magnético
- Rota-evaporador
- Proveta 100 mL

#### Reagentes:

- Óleo de soja
- Etanol
- Solução de hidróxido de potássio 40%
- Água destilada
- Hexano

### Procedimento

Pese 80g de óleo de soja e adicione a um balão de fundo redondo de 1 L, contendo 400 mL de etanol e 75g de hidróxido de potássio (previamente dissolvido no mínimo de água necessário). Acople um condensador e leva a mistura a refluxo por duas horas. Após a saponificação, espere esfriar e extraia por 3 vezes com 150 mL de éter etílico, no próprio balão, agitando com agitador magnético e sifonando a camada de éter. Concentre o extrato etéreo, em um rota-vapor a 40°C, até a metade do volume original, transfira para um funil de separação e lave com água destilada para eliminar o resto da base. Concentre até a secura o extrato etéreo em um rota-vapor a 40°C. Redissolva o resíduo (material insaponificável) em 50 mL de hexano. Borbulhe vapor na solução até atingir seu ponto de saturação, deixe repousar durante toda a noite, o precipitado consiste em cerca de 0,5g de esteróides, de P.F. 138-144°C.

### COMENTÁRIO SOBRE AS ATIVIDADES

Ao saponificar o óleo de soja os triacilgliceróis são convertidos em sais de sódio de ácidos graxos (sabões) e glicerol, ambos solúveis em água. Os lipídios insaponificáveis permanecem insolúveis em água, podendo ser extraídos por éter. Devido à sua polaridade, ao adicionar hexano, muito mais apolar, os esteróides precipitam.

### CONCLUSÃO

Como vimos, é possível diferenciar entre lipídios saponificáveis e insaponificáveis, além de separar uma classe da outra. A caracterização da presença de ácidos graxos é feita por reações de precipitação, enquanto que outros componentes dos lipídios possuem reações específicas para a sua detecção.



### RESUMO

Nesta aula aprendemos lipídios. Como diferencia lipídios saponificáveis e insaponificáveis. Como identificar os componentes estruturais dos lipídios saponificáveis e como separar os lipídios saponificáveis dos insaponificáveis.



## AUTO-AVALIAÇÃO

- 1- Qual a diferença entre lipídios saponificáveis e insaponificáveis?
- 2- Como separar lipídios saponificáveis dos insaponificáveis?
- 3- Desenhe a estrutura de dois lipídios saponificáveis:
- 4- Como identificar a presença de ácidos graxos?
- 5- O que são sabões?
- 6- Como os sabões ajudam a eliminar a gordura dos objetos?
- 7- Quais os componentes estruturais de um triacilglicerol?
- 8- Quais os componentes estruturais de uma lecitina?
- 9- Analisando a estrutura explique porque o estigmasterol é insolúvel em água, solúvel em éter ou em clorofórmio, e insolúvel em hexano.



## PRÓXIMA AULA

Na próxima aula vamos iniciar nosso estudo sobre o metabolismo. Veremos o metabolismo de carboidratos.

## REFERÊNCIAS

- BRUICE, P. Y. **Química Orgânica**. 4ª. Ed. Pearson Prentice e Hall, São Paulo – SP, 2006. Vol. 2.
- LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica**, 4ª. Edição, Editora Sarvier, 2006, capítulo 7.
- MASTROENI, M. F., GERN, R. M. M. **Bioquímica: Práticas Adaptadas**. Atheneu, São Paulo – SP, 2008.
- PAVIA, D. L., LAMPMAN, G. M., KRIZ, G. S., ENGEL, R. G. **Química Orgânica Experimental: Técnicas de escala pequena**. 2ª. Ed., Bookman, Porto Alegre - RS, 2009.
- PETKOWICZ et. al. **Bioquímica: Aulas Práticas**. 7ª. Ed. Editora UFPR, Curitiba – PR, 2007.
- dos SANTOS, P. C., BOCK, P. M. **Manual Prático de Bioquímica**. Ed. Universitária Metodista IPA, Porto Alegre – RS, 2008.
- VOGUEL, A.I. **Química Orgânica: Análise Orgânica Qualitativa**, Ed. Ao Livro Técnico S.A., Vol. 1, 2 e 3, 1971.