

**CENTRO ESTADUAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA PAULA  
SOUZA**

**ESCOLA TÉCNICA ESTADUAL JÚLIO DE MESQUITA  
Ensino Médio Integrado ao Técnico em Química**

**Anna Jhiulia de Oliveira Alves**

**Maria Gabriella Carvalho Paiva**

**Sophia Rodrigues Trindade**

**Thábata Regina Sousa**

**DETERMINAÇÃO DO TEOR DE GORDURAS TOTAIS EM  
AMOSTRAS DE CHOCOLATES PELO MÉTODO BLIGH & DYER**

**Santo André**

**2022**

**Anna Jhiulia de Oliveira Alves**  
**Maria Gabriella Carvalho Paiva**  
**Sophia Rodrigues Trindade**  
**Thábata Regina Sousa**

**DETERMINAÇÃO DO TEOR DE GORDURAS TOTAIS EM  
AMOSTRAS DE CHOCOLATES PELO MÉTODO BLIGH & DYER**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso Técnico em Química da Etec Júlio de Mesquita orientado pela Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria do Socorro Sousa da Silva como requisito parcial para obtenção do título de técnico em Química.

**Santo André**

**2022**

## RESUMO

Lipídeos são moléculas orgânicas insolúveis em água e solúveis em certos solventes orgânicos. Apresentam importantes funções nutricionais e fisiológicas no organismo humano, mas - se ingeridas em excesso - podem retardar mecanismos de articulação e acarretar inúmeras doenças, como diabetes ou hipertensão. Este trabalho, portanto, consiste na extração de lipídeos presentes em amostras de chocolates diversos (ao leite, branco, meio amargo e vegano) para sua posterior quantificação. O método empregado é o Bligh & Dyer, um dos mais utilizados, o qual se fomenta em uma mistura de clorofórmio, metanol e água. Dito isso, esse estudo visa a compreensão acerca da viabilidade da metodologia, no que lhe concerne gasto de tempo, reagentes, facilidade de aplicação e, principalmente, precisão entre os teores quantificados. Quanto aos resultados, por sua vez, as porcentagens de gorduras totais obtidas no chocolate vegano apresentaram-se extremamente favoráveis, visto a proximidade dos resultados tanto entre si, quanto entre a rotulagem, que descreve 48% de gordura. Para o chocolate meio amargo, a aplicação do método Bligh & Dyer demonstrou um desvio irrisório se comparado ao do chocolate ao leite e, principalmente, branco. A média dos teores de gorduras presentes no chocolate branco foi de 35,817%, enquanto o rótulo descrevia um teor de 33,6%. Para a amostra do ao leite, os resultados variaram de 26,28% a 41,44% de lipídeos, enquanto a embalagem tinha como verdadeiro o valor de 31,6%, constando uma alta imprecisão por parte do método. Apesar disso, a aplicação da metodologia Bligh & Dyer apresentou certos benefícios; com destaque para o curto tempo de extração, que é realizada a frio e, diferente de metodologias como Soxhlet e Goldfish, não exige altas horas de refluxo.

Palavras-Chave: Lipídeos. Gorduras Totais. Extração. Chocolate. Bligh & Dyer.

## ABSTRACT

Lipids are organic molecules insoluble in water and soluble in certain organic solvents. They present important nutritional and physiological functions in the human body, but - if ingested in excess - they can slow down mechanisms of articulation and promote the growth of numerous diseases, such as diabetes or hypertension. This paper, therefore, consists in the extraction of lipids present in samples of various chocolates (milk, white, semisweet and vegan) for later quantification. The method used is Bligh & Dyer, one of the most used, which is based on a mixture of chloroform, methanol and water. Said that, this study aims to understand the feasibility of the methodology, in terms of time spent, reagents, ease of application and, mainly, precision between the quantified contents. As for the results, in turn, the percentages of total fat obtained in vegan chocolate were extremely favorable, given the proximity of the results both to each other and to the labeling, which describes 48% fat. For semisweet chocolate, the application of the Bligh & Dyer method showed a negligible deviation compared to milk chocolate and, mainly, white chocolate. The average fat content present in white chocolate was 35.817%, while the label described a content of 33.6%. For the milk sample, the results ranged from 26.28% to 41.44% of lipids, and the packaging had the value of 31.6% as true, indicating a high inaccuracy on the part of the method. Despite this, the application of the Bligh & Dyer methodology presented certain benefits; with emphasis on the short extraction time, which is made cold and, unlike methodologies such as Soxhlet and Goldfish, does not require long hours of reflux.

Keywords: Lipids. Total Fat. Extraction. Chocolate. Bligh & Dyer.

# SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>5</b>
1.1	Lipídeos	5
1.2	Relação com a Saúde Humana	6
1.3	Composição dos Chocolates	7
1.4	Consumo de Chocolates	8
1.5	Método Gravimétrico Bligh & Dyer	9
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>11</b>
2.1	Geral	11
2.2	Específicos	11
<b>3</b>	<b>DESENVOLVIMENTO</b>	<b>12</b>
3.1	Materiais e Métodos	12
3.2	Parte Experimental	12
3.3	Resultados e Discussões	14
3.4	Tratamento Estatístico dos Resultados	22
3.5	Eficácia da metodologia	24
<b>4.</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>25</b>
4.1	Continuações para o trabalho	25
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>26</b>

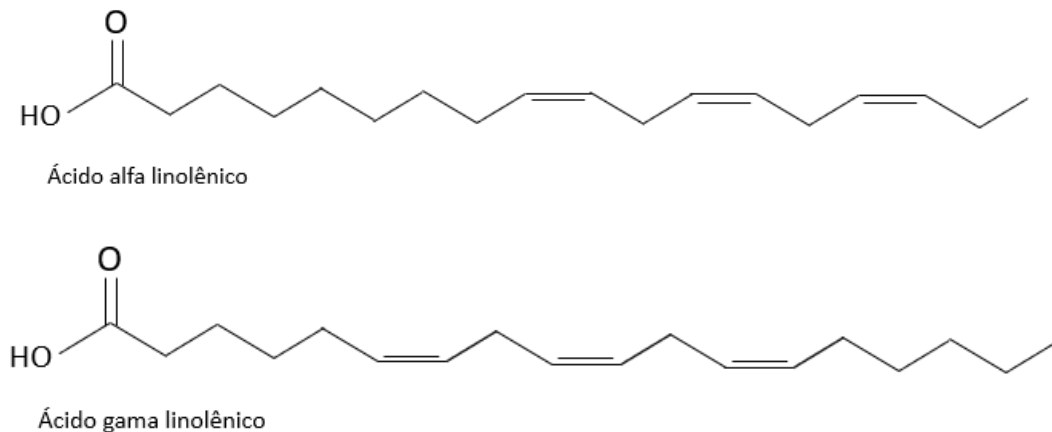
# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Lipídeos

Lipídeos são substâncias de origem animal ou vegetal, insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos, especialmente naqueles de baixa e média polaridade. A maioria resulta da combinação de ácidos graxos com álcoois, e, portanto, são denominados ésteres.

Capazes de influenciar na textura, odor, sabor e conservação dos alimentos, os lipídeos possuem também importantes funções na fisiologia, bioquímica e nutrição humana. São eles os responsáveis pela composição da membrana plasmática das células e as principais reservas de energia do organismo, isolantes térmicos e físicos, precursores de hormônios sexuais, como a testosterona, a progesterona e o estrógeno, transportadores das vitaminas lipossolúveis no organismo (como vitamina A, D, E e K) e fornecedores de ácidos graxos essenciais para a saúde, como o linolênico (ômega 3) e o linoleico (ômega 6) [1], ilustrados, respectivamente, na seguinte figura:

*Figura 1 - Fórmula estrutural dos ácidos ômega 3 e 6*

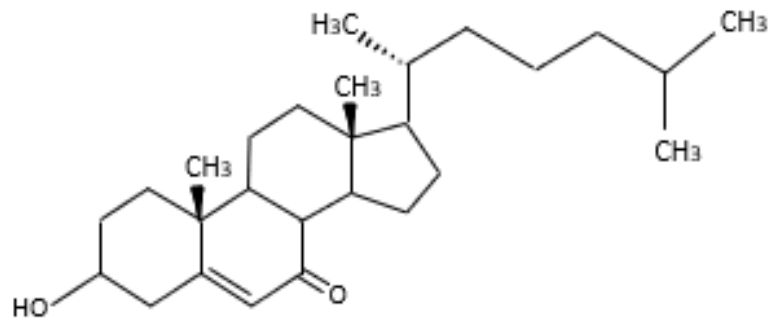


*Fonte: Autores*

## 1.2 Relação com a Saúde Humana

Um dos lipídeos encontrados no corpo humano é o colesterol, molécula primitiva de todos os esteroides, responsável pela produção de diversos hormônios, vitamina D e sais biliares e obtida principalmente através do consumo de alimentos de origem animal [1].

Figura 2 - Fórmula estrutural do colesterol



Fonte: Autores

Sabe-se que 1 grama de carboidratos pode fornecer 4 kcal; a massa equivalente de lipídeos é capaz de fornecer 9 kcal. Portanto, o armazenamento de gorduras como principal fonte de energia é característica do desenvolvimento evolutivo humano. Estas substâncias, entretanto, são hidrofóbicas, apresentando grande dificuldade em serem transportadas e absorvidas pelo organismo, formado majoritariamente por água. Desse modo, outra característica evolutiva é a produção de agregados supramoleculares anfífilos (lipofílicos em seu interior e hidrofílicos em seu exterior) capazes de envolverem as moléculas de lipídeos e promoverem a sua locomoção [1].

O HDL (*High Density Lipoprotein*), conhecido popularmente como colesterol bom, é a lipoproteína responsável por recolher a gordura em excesso das artérias e levá-la ao fígado para ser eliminada. Segundo a Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose (2013, p. 3), a absorção dessa substância no organismo humano possui limite mínimo de 40 mg/dL para homens e 45 mg/dL para mulheres [2].

Por sua vez, o LDL (*Low Density Lipoprotein*), conhecido como colesterol ruim, acumula a gordura de forma gradativa nas veias devido ao seu grande volume e consequente dificuldade em atravessá-las quando em grande quantidade, causando problemas a longo prazo, tais como aterosclerose e subseqüentes problemas vasculares. Assim, este possui limite máximo recomendado de 130 mg/dL, tendo como valores superiores a esse grande risco a saúde [2].

O consumo de gorduras em demasia, portanto, pode acarretar diversas doenças, como hipertensão, diabetes, ataque cardíaco ou derrame cerebral; assim como a sua ausência, que pode levar a problemas de semelhante risco, como disfunção neurológica, dermatite, deficiência de determinados hormônios e vitaminas, queda de cabelo e retardo do crescimento.

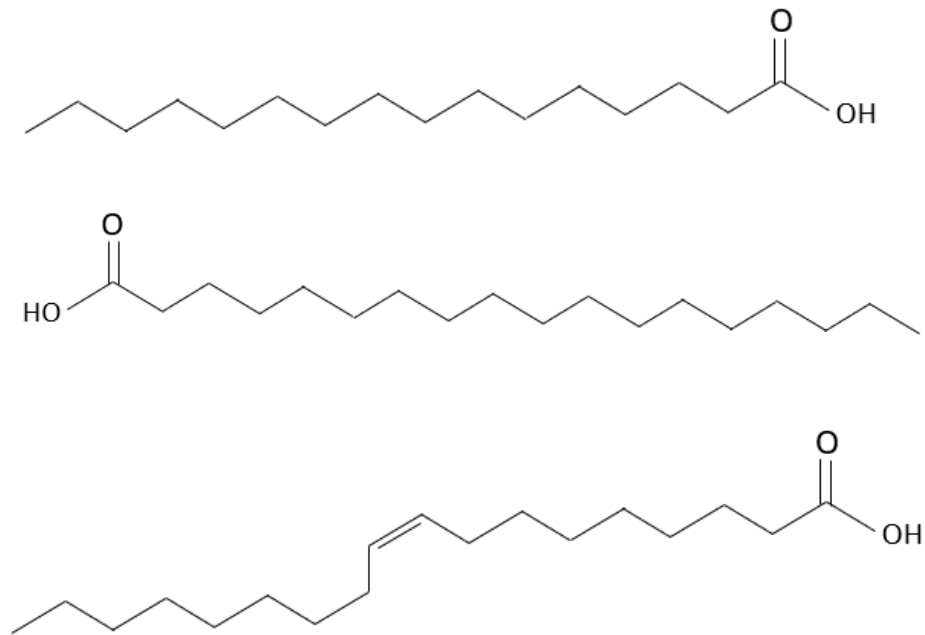
### 1.3 Composição dos Chocolates

Na formulação dos chocolates, cerca de 35% são lipídeos (derivados da gordura do leite ou da semente do cacau, formada por quase 50% de gordura). Outros 25% de sua composição, apesar de variar em concordância à particularidade da tipagem do alimento (ao leite, branco, meio amargo, 60%, 70%, etc), são - de modo grosseiro - provenientes de sólidos do cacau e minerais essenciais do próprio fruto. Cada grama do alimento, ainda, representa 9 kcal provenientes apenas de gorduras [3].

Ao redor do mundo, a diferença de gostos e legislações garante uma variedade de teores permitidos para a quantidade de cacau, leite adicional e tipos de gorduras vegetais presentes nos chocolates comercializados. Apesar dessa incerteza de composição, há sempre a presença de ácidos graxos provenientes da própria base do produto, a gordura do cacau: entre eles, dois saturados (ácido palmítico ( $C_{16}H_{32}O_2$ ) e ácido esteárico ( $C_{18}H_{36}O_2$ )) e um monoinsaturado (ácido oleico ( $C_{18}H_{34}O_2$ )) - ilustrados na figura 3 - e uma adição (abaixo de 5%) de outros ácidos graxos [4].



Figura 3 - Fórmula estrutural dos ácidos palmítico, esteárico e oleico



Fonte: Autores

#### 1.4 Consumo de Chocolates

Segundo a Associação Brasileira da Indústria de Chocolates, Amendoins e Balas, o Brasil está em quinto lugar no ranking dos principais vendedores de chocolates do mundo. Somente no país, o consumo de chocolates é, em média, de 3,5 quilos anuais por pessoa. (ABICAB, 2012) Uma dieta saudável exige 2000 quilocalorias por dia, sendo apenas 22 gramas direcionadas às gorduras saturadas, as quais conferem 10% da energia diária. Seguindo o recomendado, portanto, mais de 15% das gorduras saturadas consumidas no Brasil diariamente são provenientes do chocolate, seja de forma direta ou como ingrediente. [5]

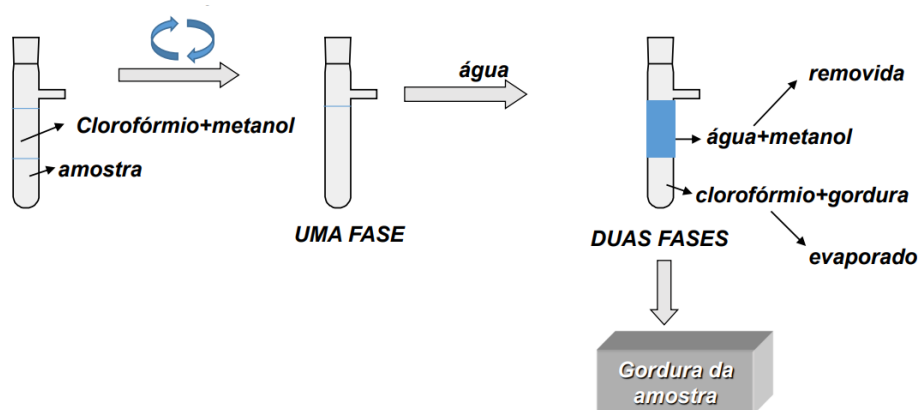
Dado a considerável demanda e a conhecida problemática acerca do excesso de lipídeos no organismo humano, a determinação quantitativa dessas substâncias permite que o consumidor tenha ciência de quanta gordura está ingerindo e das consequências caso extrapole as porcentagens diárias de consumo recomendadas (de 20 a 35%) para pessoas com IMC (Índice de Massa Corpórea) na média (18,5 - 24,9) [5].

### 1.5 Método Gravimétrico Bligh & Dyer

Um dos métodos mais utilizados para a determinação de gorduras é o Bligh & Dyer, desenvolvido pelos cientistas de mesmo nome, em 1959, como uma adaptação, mais rápida e econômica, do método Folch. Baseia-se em uma mistura de clorofórmio, metanol e água que, em proporções específicas, é capaz de reagir com lipídios (em sua totalidade) e extraí-los de forma efetiva - principalmente, os contidos em alimentos líquidos e de origem orgânica.

A metodologia foi, originalmente, proposta para a extração de lipídeos em materiais biológicos [6] e, até hoje, está em posição de destaque em comparação a outros métodos de extração - como o Soxhlet, por exemplo - que exigem o uso de calor. Com o passar do tempo, o método Bligh & Dyer foi adaptado, mas, de maneira geral, consiste na formação de um sistema bifásico, no qual a camada superior comporta o metanol e todos os não-lipídeos da amostra analisada, enquanto a camada inferior contém o clorofórmio e todos os lipídeos (figura 4).

Figura 4 - Metodologia Bligh & Dyer



Fonte: São Paulo: USP (Faculdade de Ciências Farmacêuticas)

O metanol é um álcool cuja fórmula molecular é dada por  $\text{CH}_3\text{OH}$ . A presença da hidroxila em sua estrutura lhe garante característica de alta polaridade. O clorofórmio, no entanto, de fórmula  $\text{CHCl}_3$ , é um composto de média polaridade. Sua mistura e efetiva ação na extração de gorduras é fruto de um equilíbrio líquido-líquido.

A formação desse sistema bifásico está baseada na teoria do equilíbrio líquido-líquido de três componentes (clorofórmio/metanol/água). A determinação das solubilidades de cada componente pode ser avaliada através de um diagrama ternário de solubilidade de dois líquidos parcialmente miscíveis entre si (clorofórmio e água) com um terceiro (metanol), completamente miscível nos outros dois. (BRUM; ARRUDA; ARCE, 2009).

Os lipídeos contidos nas amostras são totais, portanto, variam em neutros e polares. Os átomos que constituem moléculas de lipídeos neutros estão ligados covalentemente, e solventes de baixa polaridade ou apolares já são suficientes para extraí-los. Os polares, no que lhe concernem, estão unidos por forças eletroestáticas e ligações de hidrogênio, as quais exigem substâncias igualmente polares capazes de quebrar suas interações e, finalmente, desprendê-los. [7]

Dada a efetividade da interação clorofórmio-metanol para com a extração total dos lipídeos, o método Bligh & Dyer é tido como um dos mais utilizados para a determinação de gorduras.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Geral**

Extrair e quantificar o teor de gorduras totais contidas em amostras de chocolates variados (ao leite, branco, meio amargo e vegano) por meio do método gravimétrico Bligh & Dyer.

### **2.2 Específicos**

Demonstrar precisão entre os resultados obtidos no laboratório e compará-los com os teores descritos nas embalagens das amostras, buscando avaliar a exatidão do método Bligh & Dyer; além de explicar a viabilidade deste quanto ao tempo de extração e gasto de reagentes. Não abstraindo, ainda, o estudo das semelhanças e divergências das tipagens de chocolates selecionadas (ao leite, branco, meio amargo e vegano).

### 3 DESENVOLVIMENTO

#### 3.1 Materiais e Métodos

Foram adquiridas como amostras para análise as seguintes barras de chocolate: ao leite 500g da empresa Garoto (figura 5), meio amargo 500g da Nestlé (figura 6), branco 500g da Garoto (figura 7) e vegano Flor de Sal 80g da Only4 (figura 8).

Figura 5 - Chocolate ao Leite (Garoto)



Fonte: Chocolate & Cia

Figura 6 - Chocolate Meio Amargo (Nestlé)



Fonte: Pão de Açúcar

Figura 7 - Chocolate Branco (Garoto)



Fonte: Pão de Açúcar

Figura 8 - Chocolate Vegano (Only 4)



Fonte: Empório Quatro Estrelas

#### 3.2 Parte Experimental

Atentando-se aos cuidados de uma análise quantitativa, foi-se preciso ter cautela quanto às eventuais contaminações. Por esse motivo, as cápsulas que portariam os lipídeos extraídos foram previamente lavadas e submetidas à estufa,

durante duas horas a temperatura de 105°C, e, então, resfriadas no dessecador por meia hora.

Para o preparo das amostras, foi feita a trituração dos chocolates mediante o subsídio de uma faca e uma tábua de corte. Seguidamente, na balança analítica, foram pesados 5 gramas - para os chocolates ao leite e meio amargo - e 2,5 gramas - para os chocolates vegano e branco - da amostra em um béquer de 100 mL. Nesse béquer acrescentaram-se os solventes clorofórmio e metanol, em proporções de 1:2 - 12,5 mL e 25 mL, respectivamente -, seguido de 10 mL de água deionizada. Enfim, a amostra foi solubilizada.

Transferiu-se a mistura para um funil de separação e, durante um minuto, foram feitas agitações em movimento circular, com a constante abertura da válvula para liberação do vapor gerado pelo clorofórmio.

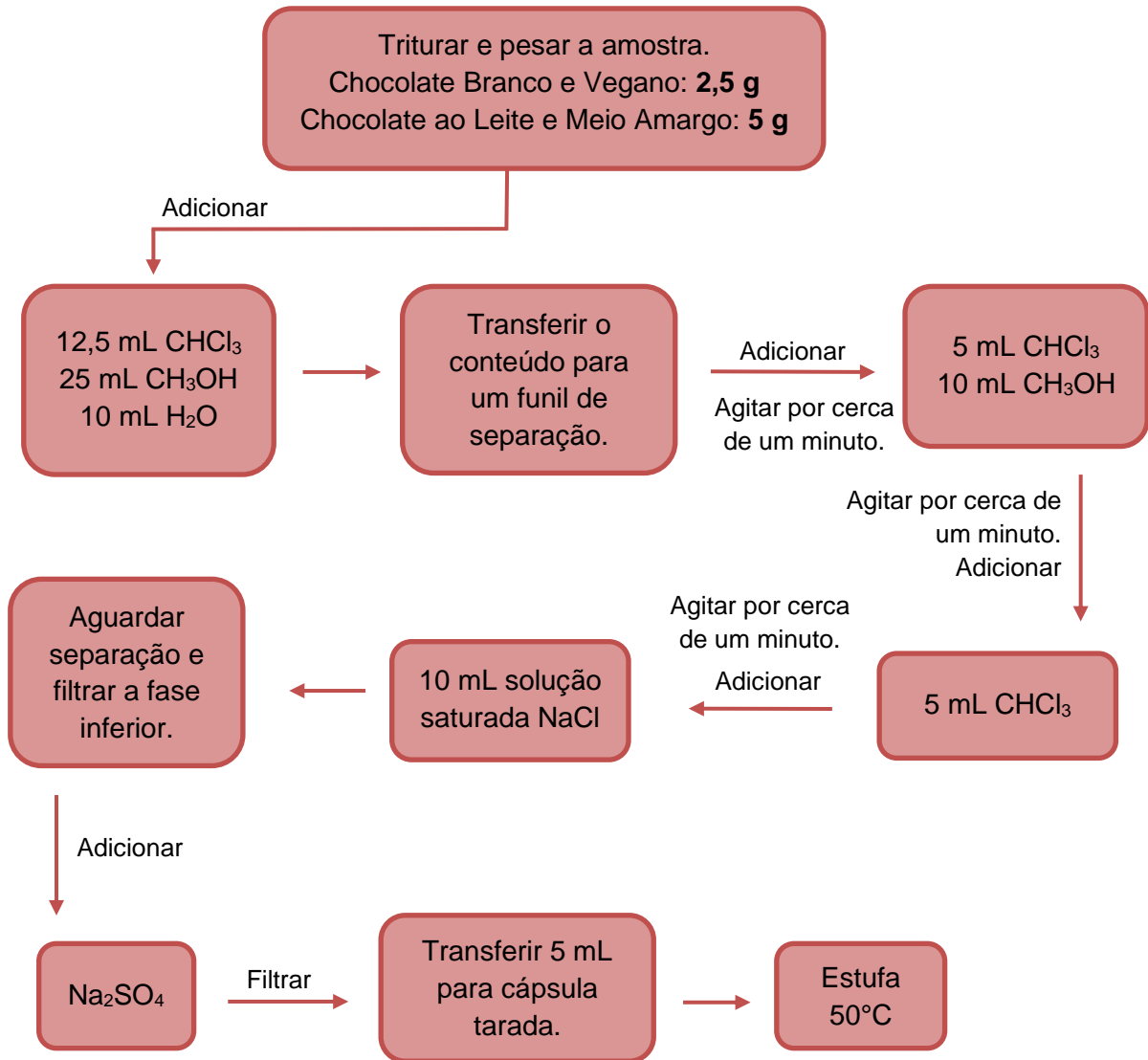
Mais uma vez, foram medidos 5 mL de clorofórmio e 10 mL de metanol, acrescentados ao funil. Outra agitação foi promovida, de tempo equivalente a anterior, e então adicionou-se mais 5 mL de clorofórmio.

Ao sistema foi agregado 10 mL de uma solução saturada de cloreto de sódio - a qual foi preparada previamente, contendo 36 gramas do sal em 100 mL de água deionizada. Com essa incorporação, o sistema foi segmentado em fases, sendo, a inferior, a que abrange o clorofórmio e a fração lipídica.

Após alguns minutos de decantação, separou-se a camada inferior e a essa foi incorporado sulfato de sódio, com a finalidade de reter qualquer umidade residual da separação. Com o auxílio de um funil e papel de filtro, o sal foi retido e a gordura mais o clorofórmio foram coletados em um béquer. Desses, pipetou-se 5 mL e transferiu-se para as cápsulas de porcelana antecedentemente taradas e, por fim, estas foram levadas a estufa a 50°C (temperatura inferior ao ponto de ebulição do clorofórmio).

O procedimento descrito pode ser sintetizado por meio do fluxograma notado na figura 9.

Figura 9 - Fluxograma descrevendo a parte experimental



Fonte: Autores

### 3.3 Resultados e Discussões

Em primórdio, é necessário fazer menção às modificações realizadas no método original visando superar as problemáticas tidas ao longo de sua execução. A primeira delas diz respeito ao tempo de agitação do funil após a adição dos reagentes. Originalmente propunha-se realizar movimentos circulares no funil por cerca de trinta minutos. No entanto, essa agitação vigorosa fez com que gotas muito pequenas da

fase orgânica ficassem suspensas a superfície aquosa [9], gerando uma emulsão no sistema e impossibilitando a nítida separação das fases.

A segunda modificação se refere a solução aquosa de sulfato de sódio à 1,5%. Essa era utilizada para tornar o sistema bifásico no método de referência para determinação de gorduras totais em alimentos. Durante as práticas, contudo, tal solução não apresentou a esperada valência, em especial, nas determinações do chocolate branco - as quais desenvolveram uma camada adicional no funil de decantação, além de uma crosta de massa do alimento que não havia solubilizado, de modo a impedir a filtragem dos lipídeos (figura 10).

*Figura 10 - Sistema de extração dos lipídeos presentes em amostra de chocolate branco utilizando solução de sulfato de sódio 1,5%*



*Fonte: Acervo Pessoal*

Desse modo, o tempo de agitação foi reduzido para cerca de 1 minuto, e a solução indicada foi substituída por uma saturada de cloreto de sódio (36 g / 100 mL), a qual apresentou a estimada eficiência na quebra da emulsão.

A priori, as análises seriam todas realizadas considerando-se 5 gramas de amostra. Porém, as tipagens de chocolate branco e vegano exigiram quantidades diferentes.

Visto que o rótulo presente na embalagem do chocolate vegano prevê um altíssimo teor de lipídeos (12 gramas de gordura totais por 25 gramas de barra, ou seja, 48%), suas análises foram feitas - desde o princípio - considerando-se 2,5 gramas de amostra.



Isso ocorre porque, segundo a metodologia Bligh & Dyer, quanto maior a % de gordura, menor deve ser a massa examinada: “quando é usado material contendo uma grande quantidade de lipídeos, ou onde o fornecimento de material é limitado, o tamanho da amostra pode ser reduzido [...] para atender aos requisitos” (BLIGH&DYER, 1959, tradução nossa).

A fim de verificar a viabilidade e necessidade de alterar a proporção, o chocolate vegano foi submetido aos procedimentos descritos em 5 gramas e 2,5 gramas de amostra. O primeiro caso está ilustrado na figura 11, onde deve-se notar a presença ínfima da fração lipídica; diferentemente da análise realizada em menor quantia, que pode ser observada na figura 12.

*Figura 11 - Sistema de extração de lipídeos contidos no chocolate vegano com 5 gramas de amostra*



*Fonte: Acervo Pessoal*

*Figura 12 - Sistema de extração de lipídeos contidos no chocolate vegano com 2,5 gramas de amostra*

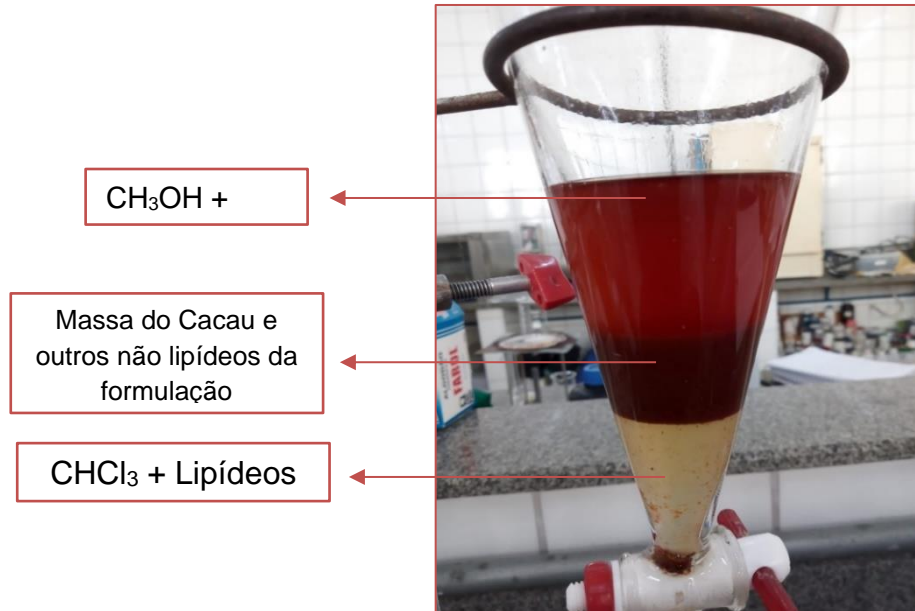


*Fonte: Acervo Pessoal*

Para as amostras do chocolate branco, no entanto, as análises realizadas inicialmente basearam-se em 5 gramas de amostra, visto que, segundo sua rotulagem, esse tipo de alimento não apresenta altos teores de lipídeos. São apenas 8,4 gramas de gorduras totais por porção (25 gramas de alimento). Desse modo, a necessidade de reduzir a amostra considerando a possibilidade da interferência de gordura excedente durante o procedimento não foi considerada.

Todavia, o sistema obtido no funil de separação denotou mais do que as 3 camadas expectáveis, as quais se resumem pela figura 13. As camadas extras foram 5, e verificam-se nas figuras 14 e 15.

Figura 13 - Sistema de extração de lipídeos e as camadas de separação apresentadas no funil



Fonte: Acervo Pessoal

Figuras 14 e 15 (nessa ordem) - Sistema de extração de lipídeos em 5g de chocolate branco



Fonte: Acervo Pessoal

Apesar do inesperado, foi dada continuidade ao procedimento, filtrando-se as duas camadas inferiores (considerando que a penúltima também fosse gordura) e, apesar disso, muito da solução foi retida após a adição de sulfato de sódio.

Por consequência, o rendimento do filtrado foi mínimo; inferior, ainda, aos 5 mL que deveriam ser pipetados posteriormente. Desse modo, dois dos seis ensaios realizados foram descartados, e os quatro teores quantificados, portanto, destacam-se na tabela 1.

*Tabela 1 – Gramas de lipídeos quantificados experimentalmente na análise de 5g de chocolate branco*

Chocolate	Massa pesada	% de gordura
Branco	5,0378 g	36,13 %
	5,0368 g	42,53 %
	5,0376 g	45,16 %
	5,0020 g	49,04 %
Média (% de gordura)	43,2 %	
Desvio (% de gordura)	5,4	
RSD (% de gordura)	12,5 %	

*Fonte: Autores*

O filtrado proveniente da extração do chocolate vegano, antagonicamente ao chocolate branco, apresentou exímio rendimento, contando com aproximados 20 mL de gordura (figura 16) e pouco teor de umidade e impurezas retidos pela filtragem (figura 17).

*Figura 16 - Filtrado proveniente da extração de lipídeos do chocolate vegano (clorofórmio e gordura)*



*Fonte: Acervo Pessoal*

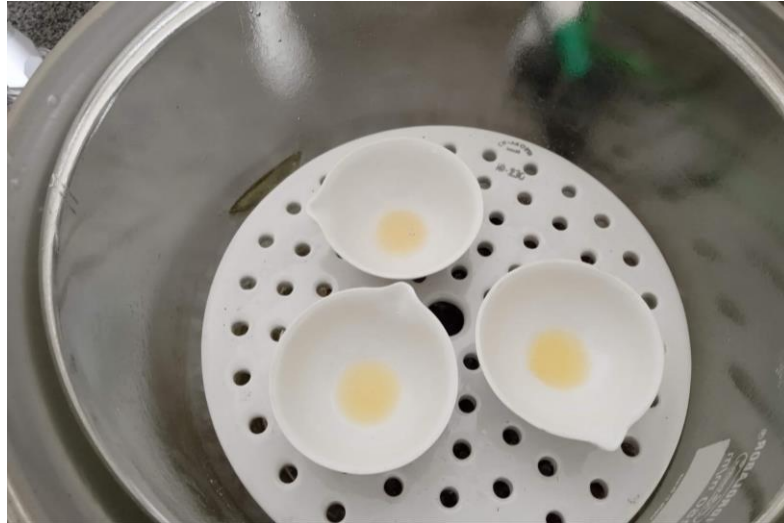
*Figura 17 - Umidade e impurezas retidas na filtragem mediante adição de sulfato no chocolate vegano*



*Fonte: Acervo Pessoal*

Em todos os experimentos, não obstante, o produto contido nas cápsulas, após a evaporação do clorofórmio, foi pesado em balança analítica na manhã seguinte a extração. As cápsulas com a gordura final estão ilustradas na figura 18.

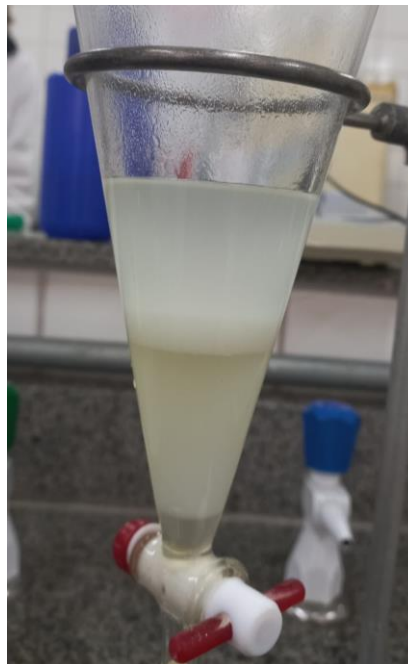
*Figura 18 - Cápsulas contendo apenas a fração lipídica*



*Fonte: Acervo Pessoal*

Tomando nota da grande discrepância dos teores quantificados para o chocolate branco e das dificuldades encontradas no laboratório, foram realizados novos experimentos tendo em conta somente 2,5 gramas de amostra. Os sistemas promovidos, desse modo, decorrem-se pela figura 19.

*Figura 19 - Sistema de extração de lipídeos em 2,5g de chocolate branco*



*Fonte: Acervo Pessoal*

Visto que, das quatro camadas formadas, a segunda (de cima para baixo) era a composta por sólidos do cacau, as duas inferiores foram filtradas e submetidas a continuidade da análise. As porcentagens de gorduras totais que consideram as massas de cada amostra pesada estão dispostas conforme a tabela 2.

*Tabela 2 – Teor de lipídeos quantificados experimentalmente em amostras de chocolate ao leite, branco, meio amargo e vegano (respectivamente)*

Chocolate	Massa pesada	% de gordura
<b>Ao leite</b>	5,0008 g	26,28 %
	5,0058 g	27,06 %
	5,0015 g	28,92 %
	5,0066 g	28,94 %
	5,0041 g	30,92 %
	5,0372 g	41,44 %
Média (% de gordura)	30,5 %	
Desvio (% de gordura)	5,5	
RSD (% de gordura)	18,0 %	

Chocolate	Massa pesada	% de gordura
<b>Branco</b>	2,5060 g	29,50 %
	2,5039 g	31,05 %
	2,5023 g	32,70 %
	2,5022 g	38,84 %
	2,5014 g	39,33 %
	2,5020 g	43,48%
Média (% de gordura)	35,8 %	
Desvio (% de gordura)	5,5	
RSD (% de gordura)	15,3 %	



Chocolate	Massa pesada	% de gordura
<b>Meio amargo</b>	5,0004 g	30,08 %
	5,0079 g	30,45 %
	5,0184 g	31,06 %
	5,0003 g	32,36 %
	5,0010 g	34,70 %
	5,0028 g	35,66 %
Média (% de gordura)	32,4 %	
Desvio (% de gordura)	2,3	
RSD (% de gordura)	7,1 %	

Chocolate	Massa pesada	% de gordura
<b>Vegano</b>	2,5031 g	47,20 %
	2,5007 g	47,33 %
	2,5004 g	47,99 %
	2,5021 g	48,28 %
	2,5001 g	49,45 %
	2,5008 g	49,60 %
Média (% de gordura)	48,3 %	
Desvio (% de gordura)	1,0	
RSD (% de gordura)	2,1 %	

*Fonte: Autores*

### 3.4 Tratamento Estatístico dos Resultados

As embalagens dos chocolates indicam que em uma porção (o equivalente a 25 gramas de alimento) existem 7,9 gramas de lipídeos totais no chocolate ao leite, 8,4 gramas no branco e no meio amargo e 12 gramas no vegano. Assim, as porcentagens rotuladas são as notadas na tabela 3.

Tabela 3 - Porcentagem de gorduras totais informada nas embalagens dos produtos

Chocolate	Gorduras totais (por porção de 25g de alimento)	% de gordura
Ao leite	7,9 g	31,6 %
Branco	8,4 g	33,6 %
Meio Amargo	8,4 g	33,6 %
Vegano	12 g	48 %

Fonte: Autores

Considerando as rotulagens postas, são conjecturados 31,6% de gordura para o chocolate ao leite, 33,6% para o meio amargo e o branco e 48% para o vegano. A relação que se estabelece entre o descrito teoricamente e o resultado experimental é a seguinte:

Tabela 4 - Comparação das médias obtidas experimentalmente com o teor descrito no rótulo das amostras

Chocolate	Experimental	Rótulo	Erro Relativo
Ao leite	30,6 %	31,6 %	3,3 %
Branco	35,8 %	33,6 %	6,2 %
Meio Amargo	32,4 %	33,6 %	3,7 %
Vegano	48,3 %	48,0 %	0,6 %

Fonte: Autores

Com exceção do chocolate meio amargo e ao leite, os teores obtidos experimentalmente foram maiores do que os quantificados nas embalagens dos produtos. Possíveis razões para o exposto são a interferência de impurezas durante o procedimento ou, ainda, falhas nas próprias rotulagens.



A diferença entre o valor tido como verdadeiro e o encontrado experimentalmente, além do mais, teve maior incompatibilidade no chocolate branco, o qual - como exposto - sofreu modificações na massa e, inobstante, manteve alta imprecisão entre os valores quantificados.

Somente no chocolate vegano essa diferença se apresentou de forma irrisória, visto, ainda, que a descrição da embalagem não informa com exatidão os valores totais de gordura; considerando-se casas decimais.

### **3.5 Eficácia da metodologia**

O método para extração de lipídeos Bligh & Dyer é um dos mais utilizados em âmbito industrial graças a sua facilidade de execução. Durante as práticas, então, pôde-se confirmar a veracidade desse ponto. Afinal, o procedimento é todo realizado a frio e, por isso, não exige condições específicas de aplicação.

A única problemática quanto a viabilidade do método se aplica ao uso de reagentes de alta toxicidade: clorofórmio e metanol. Também conhecido como triclorometano, o clorofórmio esse é um líquido volátil que, em casos de exposição inalatória, pode causar a depressão do sistema nervoso central [10]. O metanol ou álcool metílico, semelhantemente, é altamente inflamável e fatal se ingerido ou tóxico se em contato com a pele ou inalado, causando danos aos órgãos humanos [11].

O gasto tido de clorofórmio, por sua vez, foi de 32,5 mL em uma única análise. Enquanto, para o metanol, foram-se utilizados 35 mL. Por uma triplicata, a média de gasto foi de 105 mL de metanol, o que é inferior - ainda - ao consumo de solventes em outros métodos de extração. A metodologia Soxhlet, por exemplo, exige cerca de 140 mL por análise, ainda a variar pelo tamanho da corneta utilizada.

Quanto ao tempo gasto para realização das extrações, a separação da fração lipídica se mostrou instantânea ao acréscimo da solução saturada, não tomando mais do que 20 minutos até a decantação de boa parte do conteúdo presente no funil. Mais uma vez, o único gasto considerável de tempo se manteve na preparação precoce do procedimento, que exige que as cápsulas de porcelana que reterão a gordura estejam devidamente taradas. Para isso, como já descrito na etapa dos procedimentos, foi-se gasto duas horas na estufa, mais meia hora de resfriamento no dessecador.

## **4. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Apesar da facilidade do método Bligh & Dyer, os teores obtidos a partir de sua aplicação não foram todos precisos, especialmente nas amostras de chocolate ao leite e branco. Razões para isso, talvez, fomentem-se na necessidade de massas menores de analito para extração; fato esse que só foi levado em consideração para o chocolate vegano (dado sua grosseira quantidade de gorduras totais) e para o branco (durante a etapa final, uma vez que a diferença entre os resultados esperados e os obtidos foi graúda). Ou, ainda, atribui-se tamanha discrepância à imprecisão da metodologia, que se manifestou de forma satisfatória para as tipagens de chocolate meio amargo e, principalmente, vegano, mas completamente dispersa para o chocolate ao leite e, principalmente, branco.

Vale pontificar, também, que os resultados indicam a necessidade de maiores investimentos e estudos para o desenvolvimento de novos métodos ou o aprimoramento dos métodos já existentes, responsáveis pela análise de gorduras em alimentos, visando realizar a rotulagem dos produtos alimentícios do modo mais preciso possível, garantindo a ciência e a saúde dos consumidores.

### **4.1 Continuações para o trabalho**

Como prosseguimento desse estudo, propõe-se a comparação da metodologia Bligh & Dyer aqui explorada, a outros procedimentos descritos na literatura para a extração de gorduras totais presentes em amostras de chocolates, tais como Goldfish e Soxhlet.

## REFERÊNCIAS

[1] BIANCO, André. **Bioquímica – Aula 04 - Lipídios: estruturas e funções**. Youtube, 26 abr. 2018. Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=sMJ4TZ0ikcc>>. Acesso em: 23 out. 2022.

[2] XAVIER, H.T. et al. **V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose**. Arq Bras Cardiol, [S.l.], v. 101, n. 4, p. 1–20, 2013.

[3] ARAÚJO, Francisco Walber Soares. **Estudo comparativo entre os métodos de Soxhlet e Bligh & Dyer para extração de lipídio total na Curimatã Comum, Prochilodus cearensis, e separação das classes lipídicas**. 2004. TCC (Graduação em Engenharia de Pesca) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2004.

[4] RICHTER, Marissol & LANNES, Suzana Caetano da Silva. **Ingredientes usados nas indústrias de chocolates**. São Paulo: Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, 2007.

[5] MINISTÉRIO DA SAÚDE. **GUIA ALIMENTAR PARA A POPULAÇÃO BRASILEIRA**. Brasília DF, 2008.

[6] E. G. BLIGH; W. J. DYER. **A RAPID METHOD OF TOTAL LIPID EXTRACTION AND PURIFICATION**. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, 27 fev. 1959. Vol. 37.

[7] BRUM, Aelson; ARRUDA, Lia; d'ARCE, Marisa. **Métodos de extração e qualidade da fração lipídica de matérias-primas de origem vegetal e animal**. Química Nova, Piracicaba, 26 fev. 2009. Vol. 32, p. 1-6.--+

[8] CETESB. **FIT: Ficha de Informação Toxicológica. Clorofórmio**.

[9] ATLANTA. **Ficha de Informações de Segurança de Produto Químico - FISPQ. Metanol**.

CUNHA, N. C. V. da. **Comparação de Métodos de Quantificação de Lipídios totais e Avaliação da Interferência do Método na Análise do Perfil dos Ácidos Gordos**. 199 f.

Dissertação (Mestrado em Gestão da Qualidade em Laboratórios) - Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Portugal, 2011.

**Determinação de Lipídios em Alimentos.** São Paulo: USP (Faculdade de Ciências Farmacêuticas).

FIESP. **AGRONEGÓCIO DO CACAU NO BRASIL.** Pág. 24.

MARTINS, C. R.; LOPES, W. A.; ANDRADE, J. B. de. **SOLUBILIDADE DAS SUBSTÂNCIAS ORGÂNICAS.** Quim. Nova, Vol. 36, No. 8, 1248-1255, 2013

Revista Eletrônica Multidisciplinar FACEAR. OLIVEIRA, C. G. de; PADILHA, K. C. O. **Extração e determinação de gorduras totais do Chocolate ao Leite e Branco.** Paraná: Faculdade Educacional Araucária, 2014.

SANTOS, D. A. dos. **Análises de Alimentos no Laboratório Exata.** Goiás: UFG, 2017.

SILVA, Monica Macedo et al., **Determinação de Lipídios. Soxhlet.** São Paulo: USP, 2020.

UFS. **Extração.** Disponível em:  
<[https://cesad.ufs.br/ORBI/public/uploadCatalogo/18482916022012Quimica\\_Organica\\_Experimental\\_Aula\\_2.pdf](https://cesad.ufs.br/ORBI/public/uploadCatalogo/18482916022012Quimica_Organica_Experimental_Aula_2.pdf)>.