

Comparación de disolventes para la extracción de materias grasas en hígado

Por S. T. Carril González-Barros¹, M. E. Alvarez Piñeiro², J. Simal Lozano¹
y M. A. Lage Yusty²

1. Dpto. Química Analítica, Nutrición y Bromatología. Area de Nutrición y Bromatología. Facultad de Farmacia. Campus s/n. 15706 - Santiago de Compostela. La Coruña. Spain.
2. Instituto de Investigación y Análisis Alimentarios. Laboratorio de Bromatología. Facultad de Farmacia. Campus s/n. 15706 - Santiago de Compostela. La Coruña. Spain

RESUMEN

Comparación de disolventes para la extracción de materias grasas en hígado

Se compara la eficacia de extracción de la materia grasa con diferentes disolventes en hígado de cerdo y de ternera. Los resultados más satisfactorios se obtuvieron utilizando un soxhlet con una mezcla de hexano: diclorometano (50:50) durante 8 horas. Se obtuvo un Cv% de 1.9%.

PALABRAS-CLAVE: *Disolvente (extracción con) – Grasa – Hígado.*

SUMMARY

Comparison of different solvents for determination of fat in liver

The efficiency of different organic solvents for extraction the fat of pork and veal liver were compared. Soxhlet extraction for 8 hours with n-Hexane: dichloromethane (1:1) was selected. Cv% was 1.9%.

KEY-WORDS: *Fat – Liver – Solvent (extraction with).*

1. INTRODUCCION

La utilización de pesticidas en la agricultura y de PCBs en la industria, el vertido de petróleo y/o sus derivados, etc., han hecho que tanto los compuestos organohalogenados, como los hidrocarburos se encuentren, en general, ampliamente distribuidos por el medio ambiente llegando a través de la cadena trófica a los alimentos. Además, debido a su carácter lipofílico, presentan una gran tendencia a bioacumularse; dicha acumulación es proporcional al contenido en grasa de los organismos vivos, siendo potencialmente tóxicos para la salud de los mismos (Lang, 1992; Hernández *et al.*, 1992; Kannan *et al.*, 1993; Poole *et al.*, 1995), por lo que su investigación está

íntimamente relacionada con la extracción previa de la parte lipídica de las muestras polucionadas.

En el caso de muestras biológicas ricas en grasa, la extracción completa de residuos de compuestos organohalogenados y/o hidrocarburos, sólo se garantiza cuando la grasa de las mismas, se ha extraído totalmente; de ahí que esta fase, sea considerada como crítica en la determinación de residuos lipofílicos.

Los métodos tradicionalmente más utilizados, se basan en la extracción sólido-líquido en soxhlet, previa homogeneización de la muestra, con solventes orgánicos como el hexano (Hatano y Hatano, 1994; Borrel *et al.*, 1995; Marsili y Focardi, 1996) y sus mezclas en diferentes proporciones con éter etílico (Ramesh *et al.*, 1992; Kannan *et al.*, 1993), diclorometano (Jarman *et al.*, 1993; Pastor *et al.*, 1993), etc., con diferentes tiempos de extracción.

En este estudio se realiza una comparación de la eficacia de extracción de la grasa con diferentes solventes sobre muestras de hígado de cerdo y de ternera. La selección del tipo de muestra se realizó sobre la base de que el tracto hepatobiliar es el lugar de elección para la bioacumulación y metabolismo de los contaminantes orgánicos y particularmente de los hidrocarburos alifáticos y de los organoclorados.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Preparación de las muestras

El estudio se realizó sobre muestras comerciales de hígado de cerdo y de ternera adquiridas en diferentes supermercados.

Una vez en el laboratorio, se cortan en trozos de 3 x 3 mm y se congelan como paso previo a su liofilización. Esta etapa se realiza con el fin de eliminar la humedad de las mismas ya que este parámetro interfiere en la extracción con disolventes orgánicos del contenido graso. La humedad se elimina en un liofilizador Liolabore 3 Telstar durante 48 horas, a 25°C y

Tabla I
**Contenido lipídico extraído de las muestras de hígado en función del disolvente utilizado
 (g % p/p materia total)**

Tiempo de Extracción	CERDO			TERNERA		
	6 horas	8 horas	10 horas	6 horas	8 horas	10 horas
Hexano	3.01 ± 0.21	3.42 ± 0.12	3.41 ± 0.09	3.02 ± 0.23	3.42 ± 0.14	3.43 ± 0.12
Hexano: Diclorometano (1:1)	4.05 ± 1.63	4.29 ± 0.05	4.29 ± 0.06	3.23 ± 1.52	3.78 ± 0.10	3.79 ± 0.09
Hexano: Eter Etilico (1:3)	3.15 ± 1.43	3.43 ± 0.15	3.45 ± 0.15	3.17 ± 2.41	3.68 ± 0.16	3.69 ± 0.13

40°C como temperaturas de bandejas y condensador, respectivamente y a 0.01 mm Hg de presión.

2.2. Extracción de la grasa

Para la determinación del contenido graso, se toman alícuotas de 2,5 g de hígado de cerdo y de ternera previamente troceado y liofilizado que se extraen con diferentes solventes.

La muestra se coloca en un cartucho Whatman (33 x 118 mm) y se realiza la extracción por quintuplicado mediante soxhlet utilizando como solventes 200 ml de hexano y/o sus mezclas con diclorometano (1:1) y dietiléter (1:3) durante 6, 8 y 10 horas con una velocidad de reflujo de 9 sinfonadas por hora. La fase orgánica resultante se evapora a sequedad bajo una corriente de nitrógeno, se seca en una estufa a 100°C durante 1 h. 30 min. y se deja enfriar a temperatura ambiente en un desecador.

La determinación del contenido graso en cada muestra se realiza por gravimetría mediante una balanza analítica Salter ER-120A con una aproximación de 0,1 mg.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los % de humedad calculado por liofilización en las muestras de cerdo y de ternera son 70.09% y 68.93%, respectivamente mientras que los correspondientes a la humedad residual de la muestra liofilizada son de 4.56% para el hígado de cerdo y de 4.23% para el hígado de ternera.

En la Tabla I se recogen los resultados, expresados en porcentaje, del contenido en grasa de cada uno de los tipos de muestra extraídos con los disolventes ensayados durante 6, 8 y 10 horas.

El contenido en grasa con 6 horas de extracción es más bajo al obtenido con 8 y 10 horas, siendo éstas últimas coincidentes. De los solventes utilizados, los resultados más satisfactorios se obtienen con la mezcla de hexano: diclorometano (50:50) con unos valores medios de 4,3 g % para el hígado de cerdo y de 3,8 g

% para el hígado de ternera, valores que se encuentran dentro de los intervalos que se recogen en tablas de composición de alimentos (Diem y Lentner, 1975; Anónimo, 1989; Feinberg *et al.*, 1991 y Mataix *et al.*, 1993).

Sobre la base de los resultados obtenidos se puede concluir que el hexano: diclorometano (50:50) durante 8 horas es seleccionado para la extracción de la grasa en vísceras como paso previo a la determinación simultánea de residuos de compuestos que posean un elevado carácter lipofílico como los organoclorados o los hidrocarburos alifáticos.

Del estudio estadístico de los resultados obtenidos se desprende que la repetitividad de la técnica ensayada es satisfactoria ya que el Cv% medio para la extracción con hexano: diclorometano durante 8 horas es del 1.16% y del 2.6% en las muestras de hígado de cerdo y de ternera respectivamente.

BIBLIOGRAFÍA

- Anónimo (1989). –«La gran guía de la composición de los alimentos».– 1.ª Ed. Integral. Oasis, Producciones Generales de Comunicación, S. L. (Barcelona).
- Borrell, A., Bloch, D. y Desportes, G. (1995). – «Age trends and reproductive transfer of organochlorine compounds in long-finned pilot whales from Faroe Islands».– *Environ. Pollut.*, **88**, 283-292.
- Diem, K. y Lentner, C. (1975). –«Tablas científicas».– 7.ª Ed.– Geigy División Farmacéutica (Barcelona).
- Feinberg, M., Favier, J. C. e Ireland-Ripert, J. (1991). –«Repertoire Général des aliments».– Ciquial-Regal (París).
- Gabrielsen, G. W., Skare, J. U., Polder, A. y Bakken, V. (1995). –«Chlorinated hydrocarbon in glaucous gulls (*Larus Hyperboreus*) in the southern part of Svalbard».– *The Sci. Total Environ.*, **160/161**, 337-346.
- Hatano, Y. y Hatano, A. (1994). –«Influence of polychlorinated biphenyls in the growth of chicken embryos».– *J. Toxicol. Environ. Health*, **42**, 357-364.
- Hernández, L. M., Fernández, M. A., Jiménez, B., González, M. J. y García, J. F. (1992). – «Organochlorine insecticides and polychlorinated biphenyls in human adipose tissue in Madrid (Spain)».– *Toxicol. and Environ. Chem.*, **37**, 125-132.

- Jarman, W. M., Norstrom, R. J., Simon, M., Burns, S. A., Bacon, C. A. y Simoneit, B. R. T. (1993). –«Organochlorines, including chlordane compounds and their metabolites, in peregrine-falcon, prairie-falcon, and clapper-rail eggs from USA».– Environ. Pollut., **81**, 127-136.
- Kannan, K., Falandysz, J., Tanabe, S. y Tatsukawa, R. (1993). –«Persistent organochlorines in harbour porpoises from Puck Bay, Poland».– Mar. Poll. Bull., **26 (3)**, 162-165.
- Lang, V. (1992). –«Polychlorinated biphenyls in the environment».– J. Chrom., **595**, 1-43.
- Marsili, L. y Focardi, S. (1996). –«Organochlorine levels in subcutaneous blubber biopsies on fin whales (*Balaenoptera physalus*) and striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) from the mediterranean sea».– Environ. Pollut., **91(1)**, 1-9.
- Mataix, J., Mañas, M., Llopis, J., Martínez de Victoria, E. (1993). –«Tablas de Composición de Alimentos Españoles».– Universidad de Granada. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Granada.
- Pastor, M. D., Sánchez, J., Barceló, D. y Albaiges, J. (1993). –«Determination of coplanar congeners in biota samples».– J. Chrom., **629**, 329-337.
- Poole, K. G., Elkin, B. T. y Bethke, R. W. (1995). –«Environmental contaminants in wild mink in the Northwest territories, Canada».– The Sci. Total Environ., **160-161**, 473-486.
- Ramesh, A., Tanabe, S., Kannan, K., Subramanian, A., Kumaran, P. L., y Tatsukawa, R. (1992). –«Characteristic trend of persistent organochlorine contamination in wildlife from tropical agricultural watershed, South India».– Arch. Environ. Contam. Toxicol., **23**, 26-36.
- Tanabe, S., Subramanian, A., Ramesh, A., Kumaran, P. L., Miyazaki, N. y Tatsukawa, R. (1993). –«Persistent residues in dolphins from the bay of Bengal, South India».– Mar. Poll. Bull., **26(6)**, 311-316.
- Wise, S. A., Schantz, M. M., Koster, B. J., Demiral, P. R., Mackey, E. A., Greenberg, R. R., Burow, M., Ostapczuk, P. y Lillestøles, T. I. (1993). –«Development of frozen whale blubber and liver reference materials for the measurement of organic and chlorogenic contaminants».– Fresenius J. Anal. Chem., **345**, 270-277.

Recibido: Abril 1996

Aceptado: Septiembre 1996