

EFEITO DO FORMALDEÍDO NA QUANTIFICAÇÃO DE AMINAS BIOGÊNICAS EM FARINHAS DE ORIGEM ANIMAL

Larissa R. Corezzolla¹, Gizelle C. Bedendo², Diego Surek², Cristiéle L. Contreira³,
Everton Krabbe⁴

¹Graduanda em Farmácia pela Universidade do Contestado, Campus Concórdia, estagiária da Embrapa Suínos e Aves, Bolsista CNPQ/PIBIC, lari.rc@outlook.com

²Analista da Embrapa Suínos e Aves

³Doutoranda da Embrapa Suínos e Aves, Bolsista CAPES/UFPel

⁴Pesquisador da Embrapa Suínos e Aves

Palavras-chave: farinha de origem animal, formaldeído, aminas biogênicas.

INTRODUÇÃO

A farinha de origem animal é um produto que pode ser composto por ossos e tecidos de animais, sangue, penas ou carcaças inteiras oriundas do abate de suínos, bovinos, ovinos e aves que apresenta interesses econômicos e nutricionais, proveitoso no uso em rações animais. Para evitar a degradação e a contaminação microbiana, no âmbito industrial, são adicionados alguns produtos como misturas de formaldeído, ácido propiônico, pirossulfito de sódio, ácido fórmico e outros agentes dispersantes. Neste sentido, o formaldeído juntamente com ácido propiônico é considerado um dos principais e mais eficientes antimicrobianos. Usualmente são utilizados cerca de 2 - 4kg do produto por tonelada de farinha, como relatado no estudo de Longo (2010). Contudo, a partir do abate, as proteínas animais decompõem-se facilmente e são convertidas em aminas biogênicas, os quais são compostos nitrogenados providos da descarboxilação de aminoácidos (2) que apresentam toxicidade química que cresce com o aumento da carga e do peso molecular (3), e estão presentes em diferentes concentrações em alimentos ricos em proteínas, bem como os próprios subprodutos de animais. As principais aminas biogênicas encontradas são histamina, cadaverina, feniletilamina, putrescina, triptamina, tiramina, espermina e espermidina. Uma das metodologias mais utilizadas para determinação destas aminas é descrito por Smella et al. (2003), que compreende o uso da extração por ácido perclórico, extração da gordura com hexano, seguido da derivatização por cloreto de dansila e quantificação pela técnica de cromatografia líquida acoplada a detector DAD. Essa metodologia apresenta uma série de vantagens, como baixos limites de detecção, ainda que não esteja livre das interferências de componentes das matrizes. Neste contexto e com base nas reações demonstradas nos estudos de Latypova (2013), Fernandez (1963), Falck (1962) e Binz (1940), que evidenciaram a formação de um complexo condensado que ocorre entre o formaldeído e aminas biogênicas primárias e secundárias, se faz necessário realização de estudo para verificar a interferência desta substância em análises quantitativas de aminas biogênicas em produtos onde o mesmo é aplicado.

MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia aplicada para determinação das aminas foi modificada a partir do descrito por Smella et al. (2003). Foram utilizadas concentrações de 2µL, 4µL e 8µL de formaldeído dispostos em 28 tubos com mix de padrões de aminas biogênicas nas concentrações de 1µg/mL e 20 µg/mL e 1,7- diaminooheptano como padrão interno na concentração de 10µg/mL. Estas soluções foram derivatizadas com adição do tampão NaOH:NaHCO₃ (2:3 até pH>14), em seguida, adicionou-se 2mL de cloreto de dansila (solubilizado em acetonitrila na concentração de 5mg/mL). A mistura foi agitada em vórtex (1min) e mantida em repouso no escuro por 1 hora, agitando as amostras em vórtex (30seg) na metade do tempo decorrido. Após isto foi adicionado 0,1mL de hidróxido de amônio e agitado em vórtex (30seg) e novamente deixado em repouso no escuro (30 min). Posteriormente foi realizada uma extração líquido-líquido das aminas biogênicas, com a adição de 1 mL de NaCl saturado, seguido de 0,5mL de éter etílico por três vezes, homogeneizando as duas fases para maior interação, separando a fase orgânica (sobrenadante) para outro tubo. Em seguida, evaporou-se por completo o éter com atmosfera inerte por nitrogênio e aquecimento em 55°C. O conteúdo seco foi ressuspenso em 1mL de acetonitrila, agitando em vórtex até solubilização e filtrado em seringas de 1mL utilizando filtro de 0,22µm diretamente para os vials. As amostras foram quantificadas por meio de cromatografia líquida de alta eficiência – CLAE em HPLC utilizando coluna C18 (15 cm x 4,6) com acetonitrila e água no gradiente de fase móvel.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A presença de formaldeído na quantificação de aminas biogênicas em amostras de farinhas de origem animal apresentou uma expressiva redução na concentração de algumas aminas e alterações nos perfis cromatográficos das amostras (Figura 1). As aminas biogênicas analisadas apresentaram diferentes respostas frente ao interferente, observou-se um efeito de decréscimo sobre a triptamina, putrescina, espermidina e espermina, sendo que as duas últimas, na presença de formaldeído, ficaram abaixo do limite de quantificação. Com base na Figura 2, observa-se que a triptamina apresentou um decréscimo gradativo de 35%, 45% e 57%, nas concentrações de 2µL, 4µL e 8µL de formaldeído, respectivamente. Enquanto a putrescina sofreu uma redução de 90% na concentração e, a espermidina e espermina sofreram uma redução de 97% a 99%, não tendo sido possível sua determinação. As demais aminas,

como a cadaverina, feniletilamina, histamina e tiramina tiveram uma pequena diminuição de suas concentrações, porém essas alterações não foram expressivas dado que são equivalentes ao coeficiente de variação estabelecido para o método para as aminas supracitadas que está entre 10 e 15%. Acredita-se que estas alterações nas concentrações ocorrem pela reação de condensação entre o formaldeído e as aminas biogênicas, formando compostos estáveis que impossibilita a reação de derivatização pelo cloreto de dansila e consequentemente a quantificação destas pelo método proposto.

CONCLUSÕES

Os resultados mostram que o formaldeído interfere na quantificação das aminas biogênicas em amostras de farinha de origem animal. Observou-se redução expressiva na quantificação das aminas triptamina, putrescina, espermina e espermidina, através da adição de formaldeído em soluções de mix de padrões, o que em condições proteicas implicaria em uma quantificação equivocada destas em amostras contendo o produto.

REFERÊNCIAS

1. LONGO, A. Flavio; SILVA, F. Ivone; LANZARIN, A. Márcio. **A Importância do controle microbiológico em rações para aves**. Em: Simpósio Brasil Sul de Avicultura - II Brasil Sul Poultry Fair. **Anais....** Chapecó, SC, 2010. p. 36 – 53.
2. TAMIM, N. M; DOERR, J. A. **Effect of Putrefaction of Poultry Carcasses Prior to Rendering on Biogenic Amine Production**. The Journal of Applied Poultry Research, 2003.
3. BARBOSA, L. Lucas. **Características bromatológicas de farinhas de origem animal utilizadas em dietas para frangos**. 2015. Curitiba.
4. SMELA, D. et al. **Liquid Chromatographic Determination of Biogenic Amines in a Meat Product during Fermentation and Long-term Storage**. Czech J. Food Sci., Brno, República Tcheca, 2003.
5. LATYPOVA, D.R; BADAMSHIN, A. G; LOBOV, A. N; DOKICHEV, V. A. **Reaction of Ethyl Acetoacetate with Formaldehyde and Primary Amines**. Russian Journal of Organic Chemistry, 2013.
6. FERNANDEZ J. E; BUTLER, G. B. **The Reaction of Secondary Amines with Formaldehyde**. The Journal of Organic Chemistry, 1963.
7. FALCK, B. HILLARP, N.A. THIEME, G. TORP, A. **Fluorescence of Catechol Amines and Related Compounds Condensed with Formaldehyde**. Journal of Histochemistry & Cytochemistry, 1962.
8. BINZ, H. A; REINHART, E. F; WINTER, C. H. **The Reaction between Hydrogen Selenide, Formaldehyde, and Secondary Amines**. Journal of the American Chemical Society, 1940.

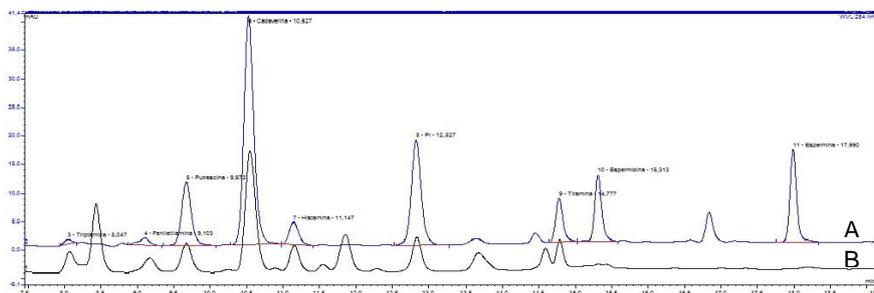


Figura 1. Combinação de cromatogramas de aminas biogênicas com ausência (A) e presença (B) de formaldeído em amostra de farinha de origem animal.

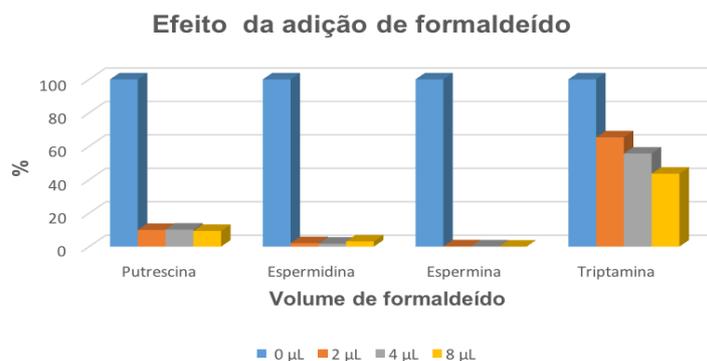


Figura 2. Efeito das diferentes concentrações de formaldeído sob as principais aminas biogênicas afetadas.