

Aplicação da derivatização com MSTFA para determinação de lipídios em artefatos arqueológicos

PAULINE KLASSEN OLIVEIRA¹; DANIELE MARTIN SAMPAIO²; LUCAS ALDRIGUI SILVEIRA²; THIAGO SEVILHANO PUGLIERI², PEDRO JOSÉ SANCHES FILHO³

¹*Instituto Federal Sul-rio-grandense – oliveira.pauline@hotmail.com*

³*Instituto Federal Sul-rio-grandense – pjsans@ibest.com.br*

1. INTRODUÇÃO

O Estado do Rio Grande do Sul apresenta o maior número de sítios arqueológicos cadastrados, contando com 3.377, 13,76% do total. No município de Pelotas, considerando cadastrados e em processo de cadastro, já foram identificados 52 sítios pré-coloniais, sendo 22 da cultura Guarani e 30 sítios do tipo cerritos (MILHEIRA, 2014).

A ligação da química, como ciência, com a conservação-restauração e investigação histórica de bens culturais é de grande importância, isto porque estes materiais (artefatos, ecofatos, edificações etc) são capazes de armazenar compostos químicos que permitem obter informações tanto aspectos culturais (ações antrópicas) como não-culturais (e.g. vegetação) (EVERSHED et al, 1997). Entre as classes de compostos orgânicos presentes nos materiais arqueológicos, os lipídios (principalmente ácidos graxos) são destaques, isso porque apresentam maior resistência à degradação, além de serem conhecidos como biomarcadores arqueológicos, isto é, são resíduos que carregam informações de atividades humanas (EVERSHED, 2008)

Inicialmente, os estudos sobre matéria orgânica amorfa em materiais arqueológicos eram limitados pelas técnicas analíticas. Hoje em dia, com os contínuos avanços da química analítica e da bioquímica, a recuperação e caracterização dos resíduos orgânicos arqueológicos (principalmente os lipídios), mesmo que alterados por mecanismos de degradação como hidrólise e oxidação, fornecem excelentes bases para determinar suas origens biológicas.

Muitos compostos pertencentes à classe dos lipídios como álcoois e ácidos graxos não apresentam características adequadas para análise por cromatografia gasosa. Tal fato faz com que estes devam ser convertidos em compostos de baixa polaridade, maior volatilidade e estabilidade térmica.

Neste contexto, destacam-se vários reagentes e processos para derivatização. A técnica de derivatização consiste em substituir os hidrogênios ativos das moléculas por grupamentos apolares com o intuito de reduzir a polaridade e aumentar a volatilidade desses compostos, tornando viável a análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/MS). O reagente derivatizante n-metil-n-(trimetilsilil)trifluoroacetamida (MSTFA) trata-se de um agente silylante que substitui o hidrogênio por um grupamento trimetilsilil através de uma reação de siliação tornando viável a análise via GC/MS.

Este trabalho tem por objetivo a comparação da análise de amostras não derivatizadas com as derivatizadas com MSTFA para caracterização de lipídios encontrados em artefatos arqueológicos (fragmentos cerâmicos) obtidos em cerritos localizados no bioma Pampa, na porção meridional da laguna dos Patos, sul do Rio Grande do Sul.

2. METODOLOGIA

A metodologia é baseada em técnicas já estabelecidas com extração dos lipídios, clean up por micro coluna, derivatização e análise por cromatografia gasosa acoplada em espectrômetro de massas. (Hansel et al., 2008)

Utilizou-se 4 g de amostra previamente pulverizada para a extração sob banho de ultrassom. Os lipídios foram extraídos usando uma mistura de solventes clorofórmio:metanol(2:1 v/v, 10 mL, 2 x 15 min no ultrassom). Feita a extração, os extratos foram fracionados por cromatografia líquida preparativa em micro coluna preenchida com sílica gel, e os analitos foram eluídos com 20 mL de uma solução de clorofórmio:metanol (2:1 v/v), a fração foi evaporada e reconstituída a 1 mL com diclorometano e cromatografada.

A técnica para derivatização foi adaptada onde a derivatização das amostras consistiram em adicionar no vial 500 µL de diclorometano, 20 µL do derivatizante MSTFA (N-metil-N-trimetilsililtrifluoroacetamida), agitando cuidadosamente. Logo após, a amostra foi submetida a um banho de areia a 80°C por trinta minutos. Feito isso, o volume do vial foi ajustado para 1mL e a amostra levada a injeção no GC-MS.

Os extratos derivatizados e não derivatizados foram analisados por espectrometria de massas acoplado a cromatografia gasosa, equipamento da marca Shimadzu modelo GC-MS-QP2010 Ultra, dotado de injetor com e sem divisão de fluxo. O espectrômetro de massas será programado para trabalhar com a variação de massa/carga (m/z) entre 50–600 com tempo total de ciclo de 1,0 s. Condições extras do MS: a temperatura da fonte de íons foi mantida a 170 °C, a emissão de corrente a 300 µA e o potencial de elétron ionização a 70 eV. A interface GC-MS foi mantida a 300 °C e hélio foi usado como gás de arraste. Os picos foram identificados com ajuda da biblioteca eletrônica disponível.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A **Figura 1** abaixo mostra um cromatograma no qual compara os picos proporcionados por uma amostra não derivatizada e pela mesma amostra após o processo de derivatização. É perceptível que o número de compostos identificados na amostra derivatizada aumentou consideravelmente, fato este confirmado pela **Tabela 1**, além disso, os ácidos graxos encontram-se em destaque.

Esta situação permitiu uma identificação mais detalhada dos lipídios presentes o que futuramente nos possibilitará uma definição mais precisa das atividades e hábitos alimentares da cultura estudada. O processo de derivatização foi adaptado, contudo os resultados obtidos vão ao encontro dos obtidos por Hansel et al.(2008), indicando uma simplificação na metodologia, pois os resultados obtidos por estes autores exigiram um processo mais trabalhoso com uma maior demanda de reagentes e número de etapas.

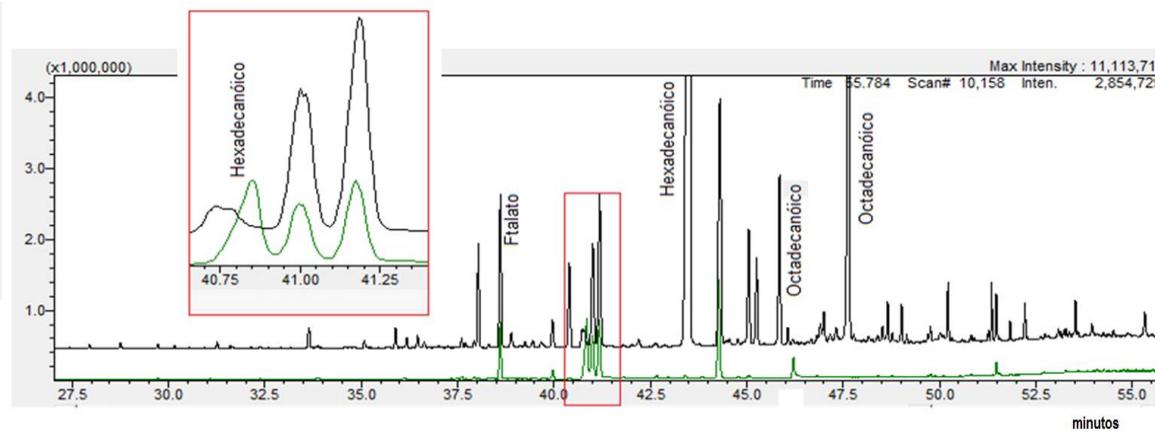


Figura 1 – Cromatogramas comparativos da amostra derivatizada (preto) e não derivatizada (verde)

Com base na **Tabela 1**, encontrou-se glicerol, o que sugere a presença de triglycerídeos, ácidos graxos entre C10 a C24 com maior porcentagem do ácido n-hexadecanóico seguido pelo ácido octadecanóico. A variação nos valores na constituição semi-quantitativa se deu em fator da modificação do fator de resposta e número total de compostos identificados.

Tabela 1 – Comparação qualitativa e semi quantitativa dos analitos para amostra derivatizada (D) e não derivatizada (ND)

Tr	Composto	D %Área	ND %Área
15.565	Ácido 2-metil-3-oxopropanóico	0,3	
23.800	Glicerol	0,2	
28.753	Ácido n-Decanóico	0,1	
33.642	Ácido n-Dodecanóico	0,7	
35.890	Ácido n-tridecanóico	0,5	
38.038	Ácido n-Tetradecanóico	2,7	0,6
38.891	Ácido Hexadecanóico*	0,5	
39.448	Ácido Pentadecanóico*	0,2	0,4
40.398	Ácido n-Pentadecanóico	2,8	1,1
42.198	Ácido Hexadecanóico*	0,3	1,9
43.506	Ácido n-Hexadecanóico	50,2	78,9
44.771	Ácido Heptadecanóico*	0,2	1,4
45.051	Ácido Heptadecanóico*	3,7	
45.256	Ácido Heptadecanóico*	2,6	
45.849	Ácido n-Heptadecanóico	5,0	
47.321	Ácido Octadec-9-enóico	0,3	
47.638	Ácido n-Octadecanóico	26,2	15,7
48.658	Ácido Nonadecanóico	0,8	
49.019	Ácido n-Nonadecanóico	0,9	
50.220	Ácido Eicosanóico	1,2	
52.217	Ácido Docosanóico	0,6	
53.952	Ácido Tetracosanóico	0,2	

*compostos ramificados

4. CONCLUSÕES

Pode-se concluir que a técnica de derivatização proporcionou uma gama de compostos presentes na cerâmica que puderam ser identificados por cromatografia gasosa, sendo respectivamente os ácidos hexadecanoíco e octadecanoíco os compostos majoritários. Esses resultados, em futuras pesquisas e em um maior aprofundamento de âmbito interdisciplinar, poderão auxiliar em descobertas históricas, desvendando possíveis lacunas deixadas por nossos antepassados que ainda hoje não puderam ser confirmados.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Milheira, R. G. "Arqueologia Guarani na laguna dos Patos e serra do Sudeste". 1. ed. Pelotas: Editora da Universidade Federal de Pelotas, 2014;
- [2] Evershed, R. P., Mottram, H. R., Dudd, S. N., Charters, S., Stott, A. W., Lawrence, G. J., Reeves, V., et al.. New criteria for the identification of animal fats preserved in archaeological pottery. *Naturwissenschaften*, 84, 402-406, 1997;
- [3] Evershed, R. P. "Organic residue analysis in archaeology: the archaeological biomarker revolution". *Archaeometry*, 50, 6, 895, 2008;
- [4] Hansel, F. A.; Fossari, T. M.; Madureira, L. A. S. "Lipídios em sedimentos arqueológicos – resultados preliminares do sítio arqueológico Rio do Meio, Ilha de Santa Catarina (SC)." *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 32, 133, 2008.