

ENSAIOS PARA A DETERMINAÇÃO DA VITAMINA K₂ NA SARDINHA PORTUGUESA

FORJAZ, A., BRITO, L. e MANSO, L.

Instituto Português de Conservas de Peixe
Lisboa - Portugal

A vitamina K₂, C⁴¹H⁵⁶O², 2,3-difarsenil-1,4-naftoquinona, fundamental no metabolismo redox, existe na sardinha, aumentando com a sua alteração.

100 g de sardinha ($\approx 70\%$ OH²) com umas 72 horas de frigorífico tem em média 40.000 unidades Dam, seja 2 mg de K₂. Tem-se admitido que o homem precisa diariamente de um mg.

Decorrem, no Laboratório do Instituto Português de Conservas de Peixe trabalhos de investigação analítica que tem como base a vitamina K₂ considerada como *índice bromatológico específico*.

Utiliza-se sempre o músculo da sardinha descabeçada, desviscerada, sem pele e sem espinha, reduzida a pasta.

Eis, em resumo o modo operativo:

- a) 10 g do músculo reduzido a pasta, misturados com 15 cm³ de ciclohexano permanecem em contacto 5 horas à temperatura ambiente e 16 horas no frigorífico (a cerca de + 5° C). O líquido decantado, filtrado, é utilizado na determinação espectrofotométrica em 248 m μ .
- b) 10 g do músculo reduzido a pasta, são misturados com 10 g de sulfato de sódio anidro e extraídos a B. M. com éter de petróleo de ponto de ebulição 40-60° C. durante 8 horas.

Esta solução etérea, filtrada, se for necessário, passa por coluna de permutite (de 6 g) ; a coluna é lavada com benzeno, destilado, primeiro 10 cm³ e depois duas fracções de 5 cm³ cada [1].

O líquido etéreo é evaporado e o resíduo retomado por ciclohexano, filtrando-se se for preciso e completando-se o volume de 5 cm³, servindo esta solução para medida em 248 m μ , amostra 1. Com o líquido

benzénico completa-se um volume que se divide em duas partes iguais, que se evaporam também no vasio, destinando-se um resíduo a ser retomado por ciclohexano, completando-se o volume de 5 cm³, servindo para a medida espectrofotométrica em 248 m μ ; o outro resíduo reserva-se para a determinação colorimétrica.

As medições espectrofotométricas foram feitas em $\lambda = 248$ m μ , sobretudo num *Unicam*; as medições em $\lambda = 331$ m μ , após o uso da técnica ciano-acética de Pinder e Singer, a que demos preferência [2], foram efectuadas no modelo universal *Colleman*.

Foi imperativo acompanhar os trabalhos com padrões de *menadiona*, 2 metil 1-4 hidrox-naftoquinona, C¹¹H⁸O². E logo se fizeram ensaios juntando a 100 g da pasta da sardinha 4 mg de menadiona. Lavagens e adsorções foram por esse facto, acentuadamente perturbadas.

Não sendo fácil efectuar, sobretudo nos ensaios de rotina, a extracção integral da K₂, verificou-se a possibilidade de calcular os *factores de análise* pela variação da densidade óptica produzida, numa amostra da pasta da sardinha, pela adição da menadiona, tomada agora como indicador.

Nestes termos reconheceram-se já variações de K₂ compreendidas entre 1 mg e 7 mg (embora em certos casos tenha atingido 21 mg) referidas a 100 g da pasta da sardinha.

À parte termos alcançado já este objectivo observámos a possibilidade de dispensar as curvas de graduações habituais e de eliminarmos o efeito das impurezas, representadas pelo resíduo da pasta da sardinha pela adição de uma substância análoga à que se pretende dosear: julgamos que este artifício pode prestar serviços importantes, sobretudo nos ensaios ópticos de carácter biológico.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Cf.: — *Vitamin methods*, György, 1950, v. I, p. 215; *Chemistry and Physiology of the Vitamins*, Rosenberg, 1945, p. 483.
- [2] *The Analyst*, v. 65, p. 11 (1940).