

Área: Ciência de Alimentos

ESTUDO DE DIFERENTES MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNA EM FARELO DE SOJA

Sandra Candaten*, Laura Langaro, Maria Tereza Friedrich

Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade De Passo Fundo, Passo Fundo, RS

**E-mail: sandracandaten@hotmail.com*

RESUMO – O farelo de soja é um subproduto da extração do óleo de soja, que passa por processos térmicos que podem afetar a qualidade nutricional. A proteína é o parâmetro de qualidade mais importante para a comercialização do farelo, sendo assim, é fundamental a sua determinação. Com o avanço da tecnologia os métodos de determinação da composição química dos alimentos têm sido aprimorados. Existem diversas metodologias para quantificação de proteína em alimentos que se diferem pelo tempo de execução da análise e pela forma da determinação. Essa pesquisa teve como objetivo comparar diferentes metodologias para determinação do teor de proteína em farelo de soja: Método Kjeldahl, Dumas e Espectroscopia de Refletância no Infravermelho Próximo (NIRS). Os ensaios mostraram que independente da amostra utilizada para os métodos estudados, os resultados foram diferentes estatisticamente, em nível de significância de 95%. O método Dumas apresentou maior eficiência por ser um processo de combustão, onde ocorre a queima total do material orgânico, assim, permitindo que todo o nitrogênio esteja disponível para determinação. O método Kjeldahl mostrou-se menos eficiente, isso pode estar relacionado ao fato de que o término da decomposição da amostra é definido pelo analista, o que não garante que o processo tenha sido completo. Ao retirar a amostra antes do tempo o nitrogênio pode não estar totalmente livre, subestimando o valor da proteína. O método NIR necessita de curvas de calibração previamente construídas no instrumento e se as mesmas não tiverem um número significativo de amostras, pode resultar em desvios nos resultados.

Palavras-chave: Métodos analíticos. Comparação de metodologias. Farelo de soja.

1 INTRODUÇÃO

A soja tem grande importância na indústria alimentícia, sendo utilizada para produção de óleo e farelo, que é inserido na fabricação de rações. Entretanto, a qualidade desses produtos pode ser afetada por processamento térmico inadequado. O controle de qualidade das matérias primas que compõem a ração é importante para quantificação e identificação dos nutrientes. Utilizam-se análises químicas para determinar a composição nutricional e a qualidade do processamento. A identificação das características físico-químicas dos alimentos também é fundamental devido às necessidades da indústria e também do consumidor em conhecer as propriedades tecnológicas e nutricionais do produto. (RUNHO, 2001).

A análise de proteína é determinada através da análise de nitrogênio presente na amostra, pois o nitrogênio é o elemento que se encontra mais presente nas proteínas, o teor deste não é proveniente apenas das proteínas, mas também de ácidos nucleicos, aminas, carboidratos e lipídios substituídos por radicais nitrogenados e aminoácidos não proteicos (ESTEVES, 2006). O nitrogênio da amostra é transformado em sulfato de amônio por digestão ácida, e em nitrogênio amoniacal por destilação em meio alcalino, após o nitrogênio é quantificado por titulação em ácido padronizado (COMPÊNDIO, 2013).

Diversos métodos são utilizados para determinar os níveis de proteínas nos alimentos, os mesmos se diferem pelos equipamentos e reagentes utilizados, tempo de obtenção dos resultados e custo. O método mais utilizado é o Kjeldahl, seu processamento passa por três fases até a obtenção do resultado, tem muitas interferências, necessita de analista qualificado para essa técnica e demora em média duas horas para obtenção do resultado final. (SILVA & QUEIROZ, 2000). O Dumas é um método tradicional e eficiente, mas requer equipamentos de custo elevado, é utilizado para determinar o nitrogênio da amostra. Segue o princípio de combustão, ou seja, todo processo é realizado em um só equipamento. (JANDREY, 2014). O método de Espectroscopia de refletância no infravermelho próximo (NIRS) é o que obtém resultados mais eficientes entre os citados anteriormente, com baixo custo nas análises. Esse método é utilizado para determinar proteína bruta e também quantificar os aminoácidos totais e digestíveis. (CAMPESTRINI, 2005).

O objetivo deste trabalho foi comparar os diferentes métodos já mencionados, para determinação do teor de proteína no farelo de soja.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Preparo da amostra

O farelo de soja foi obtido em três fornecedores diferentes identificadas como A, B e C, as amostras foram trituradas em moinho rotativo com peneira de granulometria de 0,5 mm. Após a moagem, as amostras foram armazenadas em recipiente plástico hermeticamente fechado até momento das análises.

2.2 Método NIRS

Esse método foi avaliado no laboratório físico-químico da Universidade de Passo Fundo (NIRS 1) e no laboratório físico-químico da empresa Agrodanieli Indústria e Comércio LTDA (NIRS 2). Após preparo das amostras as mesmas foram transportadas até o local da análise em recipiente plástico.

A amostra foi homogeneizada, colocada na célula e triturada até completar o nível do recipiente, compactou-se a amostra e limpou-se a célula com pincel e papel técnico a fim de retirar os resíduos de gordura que podiam interferir na leitura dos resultados.

Inseriu-se a célula, contendo a amostra, no equipamento previamente calibrado e aguardou-se a leitura que foi observada através do computador. Depois de concluída a leitura do nitrogênio proteico presente na amostra, foi retirada e limpada a célula e em seguida descartou-se a amostra.

2.3 Método Dumas

As amostras foram analisadas no laboratório físico-químico da empresa Nutrifarma Saúde e Nutrição Animal.

Colocou-se a amostra triturada dentro de uma folha de estanho e mediu-se 3,0 g de amostra. Inseriu-se o cartucho contendo a amostra no equipamento Leco FP-2000 previamente calibrado e depois foi ligado. Aguardou-se a total combustão da amostra e em seguida efetuou-se a leitura do nitrogênio proteico que foi informada no instrumento.

Nesse método toda amostra é incinerada e o cálculo do teor de proteína é baseado na quantidade de amostra informada, através de um software previamente programado que é acoplado ao equipamento.

2.4 Determinação de proteína pelo método Kjeldahl

Esse método foi avaliado no laboratório físico-químico da empresa Agrodanieli Indústria e Comércio LTDA.

Mediu-se 1,0 g da massa da amostra triturada em papel livre de nitrogênio e colocou-se no tubo de digestão apropriado. Após adicionou-se 7,0 g de sulfato de potássio, 1 g de sulfato de cobre e 20 mL de ácido sulfúrico concentrado.

Fez-se a digestão a quente, aproximadamente 450 °C, até que a solução ficou levemente azulada e o precipitado no fundo do frasco, quando houver, fique branco ou levemente cinza. Em seguida esfriou-se o frasco até a temperatura ambiente. Transferiu-se aproximadamente 25 mL de ácido bórico para um erlenmeyer de capacidade de 250 mL e adicionou-se solução indicadora mista. Mergulhou-se a saída do condensador nesse erlenmeyer e esperou-se completar a reação.

Adicionou-se ao Kjeldahl, 200 mL de água destilada e solução de NaOH (40%) até alcalinizar o meio (aproximadamente 80 mL). Colocou-se rapidamente no conjunto destilador e foi destilado até recolher um volume de 125 mL de destilado.

Efetou-se a titulação da solução do erlenmeyer com solução HCl 0,1 mol L⁻¹ até a mudança de coloração.

Um ensaio em branco foi feito utilizando na digestão o papel de pesagem e reagentes. O valor encontrado na titulação foi subtraído dos resultados da amostra.

2.5 Tratamento estatístico

Todas as análises foram feitas em oito repetições. O tratamento dos dados foi realizado por teste de variância (ANOVA) e posteriormente teste de Tukey através do software SASM-Agri.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos resultados obtidos foram realizados tratamentos estatísticos, como análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey. Os mesmos foram realizados pelo software SASM-Agri.

Os testes mostraram que independente da amostra utilizada para os métodos estudados, os resultados apresentaram diferença nos tratamentos, ou seja, houve diferença estatisticamente em nível de significância 95%. Os resultados podem ser conferidos no Quadro 1.

Quadro 1 – Resultados obtidos após teste de Tukey.

Amostra	Tratamento	Resultado
A	Dumas	47,88a± 0,025
	NIRS 1	46,45b± 0,066
	NIRS 2	43,47d± 0,015
	Kjeldahl	45,71c± 0,059
B	Dumas	47,30b± 0,020
	NIRS Agro	46,58c± 0,091
	NIRS UPF	48,09a± 0,013
	Kjeldahl	46,28d± 0,037
C	Dumas	48,78a± 0,029
	NIRS Agro	47,39b± 0,028
	NIRS UPF	45,47d± 0,017
	Kjeldahl	46,99c± 0,035

As amostras obtidas pelos três fornecedores tinham prescritos em seus rótulos a porcentagem de proteína bruta de cada amostra, ambos de 46%.

A amostra do fornecedor A não apresentou resultado estatisticamente igual nos três métodos utilizados, no nível de significância de 95%. No método Dumas e no primeiro equipamento NIRS utilizado, a amostra obteve resultado superior ao nível de proteína indicado pelo fabricante, porém para o segundo equipamento NIRS e para o método Kjeldahl o nível de proteína esperado não foi alcançado.

Na amostra do fornecedor B se obteve resultados acima de 46% nos três métodos utilizados, porém houve diferença entre os resultados, se verificou variação entre 46 e 48%. Os resultados são estatisticamente diferentes no nível de 95% de confiança.

Ao analisar a amostra do fornecedor C, percebe-se que os resultados se assemelham com os obtidos pela amostra do fornecedor A. Todos os resultados foram considerados diferentes em nível de significância 95%. Para o método Dumas, Kjeldahl e com o primeiro equipamento NIRS, os resultados foram superiores a 46%, já no segundo aparelho de NIRS utilizado o resultado foi menor que o esperado.

Segundo Silva (2006), em seu estudo para composição química do farelo de soja em relação ao grão de soja através do método Kjeldahl, o resultado do teor proteico para o farelo de soja foi de 46% o que se assemelha

aos resultados encontrados para as amostras analisadas, sendo assim, considera-se que as amostras possuem boa qualidade química para fins industriais.

Ao comparar os métodos Dumas e Kjeldahl na determinação do nitrogênio proteico, Sader (2004) concluiu que o método Dumas é claramente o mais eficiente e melhor, por não utilizar reagentes, sendo assim, é considerado uma técnica segura para o meio ambiente, podendo substituir o método Kjeldahl em laboratórios de nutrição animal. Esta avaliação entre os dois métodos foi a mesma observada no presente estudo, sendo que o método Dumas apresentou maior eficiência que os demais por se tratar de uma metodologia onde ocorre a combustão total do material orgânico, assim, permitindo que todo o nitrogênio seja quantificado pelo equipamento. O método Kjeldahl mostrou-se menos eficiente, isso pode estar relacionado ao término da digestão por ser definido pelo analista, o que pode resultar em erros uma vez que a retirada da amostra antes do tempo ideal pode ocorrer a decomposição incompleta da matéria orgânica afetando a concentração de nitrogênio. Deve-se considerar ainda que o método Kjeldahl envolve várias etapas e ao finalizar a análise podem ter ocorrido erros acumulativos das diferentes etapas analíticas. O método NIR não necessita da intervenção do analista para o término da análise o que faz com que as chances de erros diminuam.

4 CONCLUSÃO

Após a análise dos métodos e resultados, concluiu-se que o método Dumas apresentou maior eficiência por ser um processo de combustão, onde ocorre a queima total do material orgânico, assim, permitindo que o todo nitrogênio esteja disponível para determinação. O método Kjeldahl mostrou-se menos eficiente, isso pode estar relacionado ao fato de que o término da decomposição da amostra é definido pelo analista, o que não garante que o processo tenha se completado. Ao retirar a amostra antes do tempo o nitrogênio pode não estar totalmente livre, subestimando o valor da proteína. O método NIR necessita de curvas de calibração previamente construídas no instrumento e se as mesmas não tiverem um número significativo de amostras, pode resultar em desvio nos resultados.

5 AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, aos meus pais, a Empresa Agrodanieli por proporcionar a oportunidade de realizar as análises necessárias, à Professora Maria Tereza Friedrich e ao corpo docente da Instituição pela orientação nesta pesquisa e a Universidade de Passo Fundo pela disponibilidade do equipamento NIRS.

6 REFERÊNCIAS

COMPÊNDIO Brasileiro de Alimentação Animal, 2013. Método nº 46.
ESTEVES, E. G. **Componentes nitrogenados: metodologias analíticas e associações com outros indicadores de qualidade do leite cru refrigerado**. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.

RUNHO, R. C. **Farelo de soja: processamento e qualidade.** Poli-nutri. Jan. 2001.

SADER, A. P. O.; OLIVEIRA, S. G.; BERCHIELLI, T. T.; **Application of Kjeldahl and Dumas combustion methods for nitrogen analysis.** Archives of Veterinary Science, vol. 9, n. 2, p. 73-79, 2004.

SILVA, M. S.; NAVES, M. M. V.; OLIVEIRA, R. B.; LEITE, O. S. M.; **Composição química e valor proteico do resíduo de soja em relação ao grão de soja.** Ciênc. Tecnol. Alimentos, Campinas, vol. 26, n.3, jul/set. 2006.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos. Métodos químicos e biológicos.** 3. ed. Editora UFV, Viçosa, p. 37-40, 2000.

JANDREY, J. **Métodos para determinação de proteínas.** Disponível em:<
<https://prezi.com/5hiulilldo1g/metodos-para-determinacao-de-proteinas/>> 2014.

CAMPESTRINI, E. **Utilização de equipamento nirs (near infrared reflectance spectroscopy) nos estudos de valores nutricionais (composição química e digestibilidade) de alimentos para não ruminantes.** Revista Eletrônica Nutritime. v. 2, n. 5, p. 240-251, set/out. 2005.