

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
PROJETO DESPERTANDO PARA A CIÊNCIA

OFICINA DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNA PELO MÉTODO KJELDAHL
Importância e determinação

Prof^a. Dr^a: Mareci Mendes de Almeida

Aline Oksana Sikorski

Daiane Karoline Costa Pedrozo

PONTA GROSSA

2016

Objetivo

Entender e executar a técnica de determinação de proteínas (Kjeldahl) utilizada com frequência pelo analista de alimentos.

O método de Kjeldahl determina o teor de nitrogênio de origem orgânica. Isso implica que o nitrogênio proveniente de outras fontes, tais como ácidos nucléicos, alcalóides, lipídeos nitrogenados, carboidratos nitrogenados, porfirinas ou pigmentos nitrogenados, está entrando no cômputo total. Esses, no entanto, são geralmente componentes menores, e o método de Kjeldahl continua como o método químico mais útil para a determinação de proteína. Como o teor de nitrogênio dos diferentes tipos de proteína é aproximadamente o mesmo (em torno de 16%), pode-se multiplicar a porcentagem de nitrogênio total encontrado pelo fator de 6,25 para obter a porcentagem de proteína na amostra (CECCHI, 2003).

Amostras a serem analisadas:

Proteína texturizada de soja (PTS): sua produção é feita a partir de farinha desengordurada de soja, por um processo chamado de extrusão termoplástica.

Figura 4: Tabela nutricional da proteína texturizada de soja.

Proteína de soja miúda escura - Informações Nutricionais		
Porção de 50gr		
Quantidade por porção		% VD*
Valor Calórico	176kcal	9%
Carboidratos	17gr	5%
Proteínas	26gr	35%
Gorduras Totais	0,5gr	35%
Gorduras Saturadas	0,1mg	0%
Gorduras Trans	0gr	0%
Fibra Alimentar	9gr	36%
Sódio	5mg	0%
Não Contém Glúten		
(*)Valores diários (V.D) estabelecidos para uma dieta com 2000Kcal. Valores variam conforme necessidade.		
(**)Valor não estabelecido.		

Leite em pó: devido ser desidratado possui uma longevidade estendida, é produzido a partir da desidratação do leite.

Figura 5: Tabela nutricional do leite em pó.

INFORMAÇÃO NUTRICIONAL		
Porção de 26 g (2 colheres de sopa)*		
Quantidade por porção		%VD(**)
Valor energético	130 kcal = 546 kJ	7%
Carboidratos	9,9 g	3%
Proteínas	6,8 g	9%
Gorduras totais	7,0 g	13%
Gorduras saturadas	3,9 g	18%
Gorduras trans	não contém	***
Fibra alimentar	0 g	0%
Sódio	95 mg	4%
Cálcio	246 mg	25%
Ferro	5,2 mg	37%
Zinco	2,4 mg	34%
Vitamina A	225 µg RE	38%
Vitamina D	1,8 µg	36%
Vitamina C	17 mg	38%

* Quantidade suficiente para o preparo de 200ml.
 ** %Valores Diários de referência com base em uma dieta de 2.000 kcal ou 8.400 kJ. Seus valores diários podem ser maiores ou menores dependendo de suas necessidades energéticas. *** VD não estabelecido.

ATIVIDADE PRÁTICA

Digestão da amostra

- Pesar em balança analítica 0,5g de amostra e transferir para um tudo Kjeldahl;
- Adicionar-se 1,5g de mistura catalítica;
- Adicionar 6mL de ácido sulfúrico concentrado;
- Aquecer em bloco digestor, a princípio lentamente (50°C) e depois gradativamente até atingir 350°C;
- Quando o líquido se tornar límpido e não houver mais resíduos carbonizados retirar do aquecimento, deixar esfriar e adicionar 10mL de água destilada.

Destilação da amostra

Nessa etapa, a amostra é transferida para um aparelho de destilação (Destilador de Nitrogênio), onde se acrescenta um excesso de hidróxido de sódio. A amônia, que em meio ácido estava sob a forma de NH_4HSO_4 (não-volátil), meio básico, passa para a forma de NH_3 (volátil). Pode, então, ser destilada e recolhida em uma solução ácida.

- Acoplar ao destilador um erlenmeyer contendo 10mL de ácido bórico a 2% mais indicador;
- Adaptar o tudo de kjedahl ao destilador e proceder a destilação (2.1. Uso do destilador de Nitrogênio);

Uso do destilador de Nitrogênio

- Conectar o cabo de ligação na tomada (220v);
- Ligar a chave geral;
- Abrir a torneira e observar a saída de água na pia;
- Ligar o interruptor da caldeira, fechar a saída de água do condensador até que a água chegue no nível, desligar o interruptor e liberar a saída de água;
- Sempre manter o nível da água da caldeira;
- Girar o botão de aquecimento para o médio, sentido horário, e aguardar a fervura ou produção de vapor;
- Quando sair vapor pelo tubo, girar o botão do aquecimento até o zero;
- Completar o copo de soda até 150 mL;

- Colocar na mesa suporte um erlenmeyer de 250 mL com 10 mL ácido bórico 2% e indicador, com a saída mergulhada no líquido do erlenmeyer;
- Abrir a tampa de acrílico e conectar o tubo de digestão;
- Neutralizar a amostra com a soda até a amostra ficar escura (quando iniciar a neutralização se a solução de ácido bórico começar a subir na serpentina aquecer com o botão no número 2);
- Girar o botão de aquecimento para o médio, para iniciar a destilação;
- Destilar até obter um volume de 100 mL no erlenmeyer;
- Liberar o erlenmeyer, lavar o bico condensador, conduzindo a água de lavagem para dentro do erlenmeyer. Retirar o erlen e levá-lo para titulação;
- Girar o botão de aquecimento até o zero, aguardar alguns segundos, retirar o tubo com resíduo (usar luva), se caso o volume no tubo ultrapassar a sua capacidade acoplar um béquer por baixo do tubo para que o resíduo não derrame na bancada.

Limpeza do destilador de Nitrogênio

- Lavar o copo da soda com água, coletando na ponta do tubo com vasilhame;
- Adicionar aproximadamente 15 mL de ácido sulfúrico 0,5N em um tubo de Kjeldahl e proceder a destilação até obter um destilado de 50 mL, repetir o processo com água.

Titulação da amostra

Nessa etapa, a titulação é direta usando ácido bórico (ácido fraco) para recolher a amônia. Ocorre a formação de borato de amônio. A amônia é, então, titulada diretamente por um ácido forte padronizado, que a desloca da molécula de borato. O cálculo nesse caso é direto, sendo que o número de mols do ácido consumido é igual ao número de mols da amônia. O ácido bórico empregado não é padronizado e o seu volume não precisa ser conhecido exatamente. O destilado deverá ser titulado com a solução padronizada de HCl 0,1N (CECCHI, 2003).

Usando o peso equivalente do nitrogênio, a molaridade do ácido clorídrico e o peso da amostra, com o fator apropriado, calcula-se a porcentagem de proteína presente na amostra (CECCHI, 2003).

Fórmula da porcentagem de nitrogênio:

$$\%N = \frac{V.N.f. 14,0,1}{m}$$

Fórmula da porcentagem de proteína:

$$\% \text{ proteína} = \%N \cdot 6,25(\text{fator})$$

Fator geral de proteínas: 6,25

Fator para o trigo: 5,70

Fator para o leite: 6,38

Cálculos dos resultados:

As amostras devem ser realizadas em triplicata, determinando a média entre os resultados das amostras e desvio padrão:

A média é calculada somando os valores que foram encontrados entre as amostras e dividido pelo respectivo número de amostras como exemplo, a análise feita em triplicata dividisse o valor obtido por três, sendo sua fórmula:

$$\frac{A1 + A2 + A3}{3}$$

A análise de determinação de proteína deve ser realizada em triplicata, para uma melhor precisão do resultado, a precisão descreve a reprodutibilidade das medidas, em outras palavras, a proximidade entre os resultados que foram obtidos experimentalmente da mesma forma. Geralmente, a precisão de uma medida é prontamente determinada simplesmente pela repetição da medida em réplicas da amostra (SKOOG, 2010).

Para determinar essa exatidão é realizado o desvio padrão que mostra o quanto de variação existe em relação à média do valor esperado, sendo sua formula:

$$S = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{N - 1}}$$

S= desvio padrão;
 x_i = volume da amostra;
 $\bar{x}$ = média;
N= quantidade de replicatas.