

Análise de Alimentos II

Capítulo 1: Aspectos gerais

Profª Drª Rosemary Aparecida de Carvalho



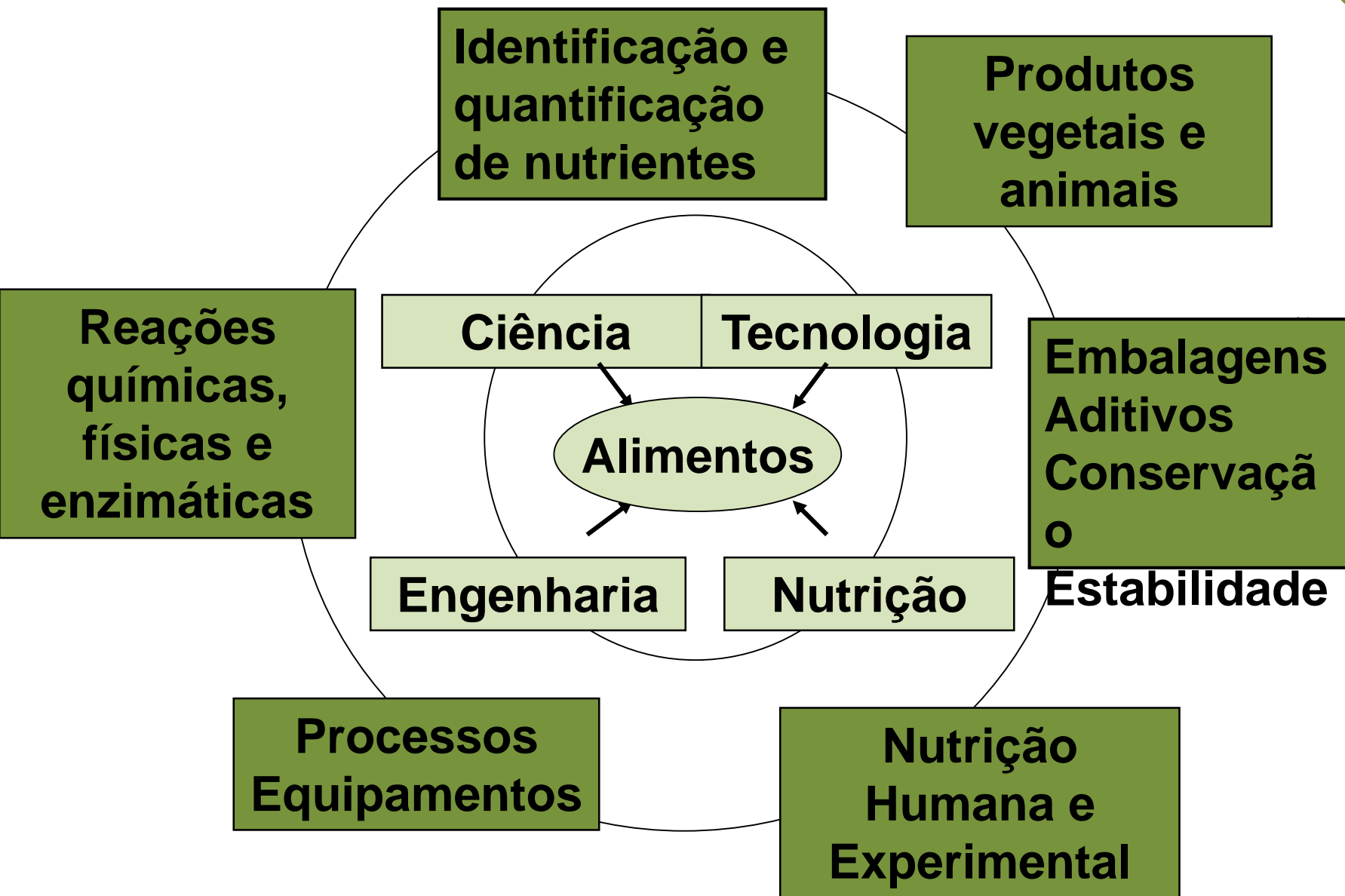
Pirassununga/SP
Agosto/2017

Visão geral

➔ Análise de alimentos II ↔ Análise Química Analítica

- Envolve: separação, identificação e quantificação de componentes de uma amostra.
- Desenvolvimento de métodos: determinação da composição química de materiais (amostras) e estudo da teoria envolvida.

Análise de Alimentos

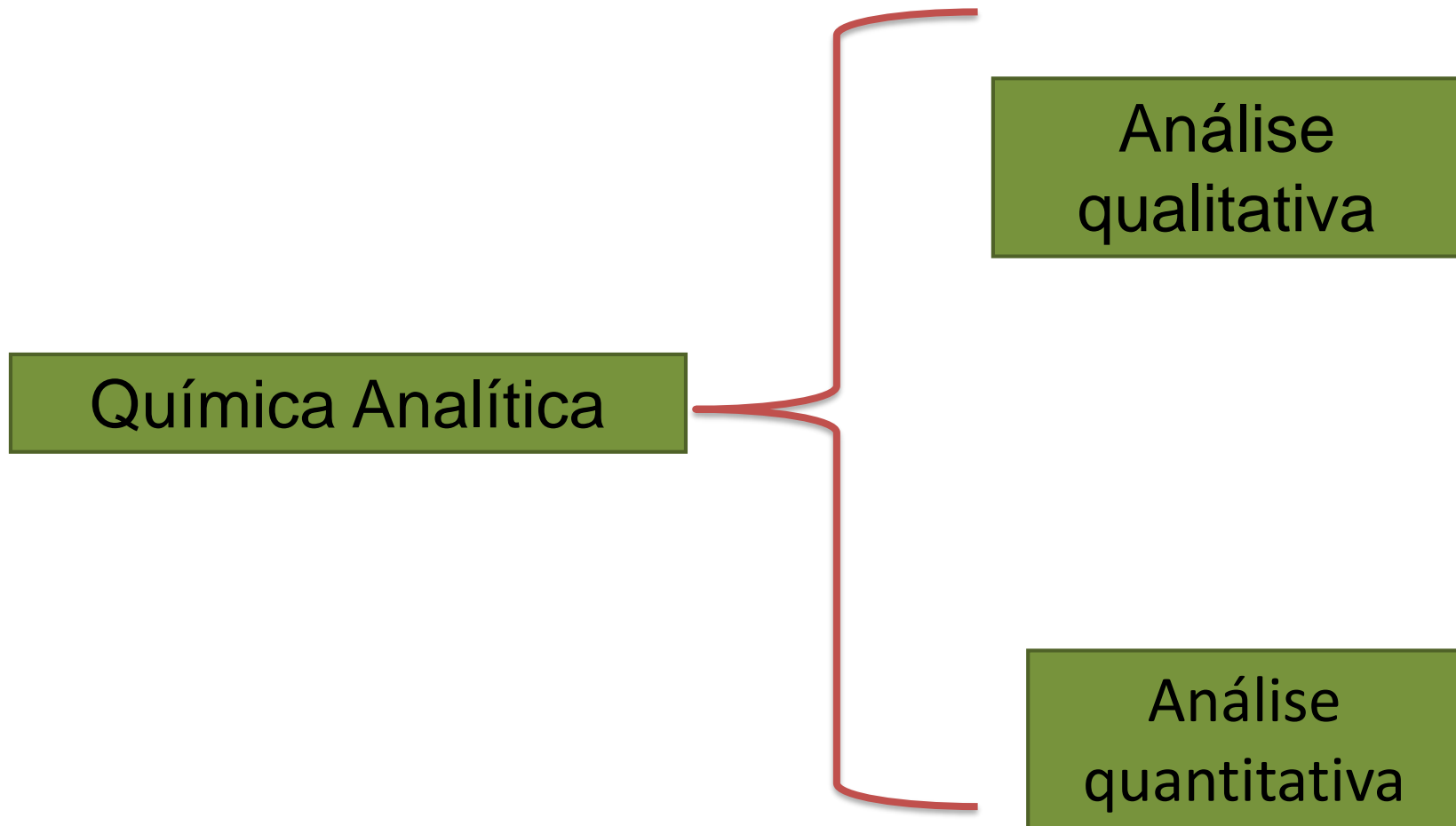





Aplicações

- Controle de qualidade (fabricação e estocagem do alimento processado).
- Caracterização de alimentos *in natura*: alimentos novos e desconhecidos
- Pesquisa de novas metodologias analíticas.
- Pesquisa de novos produtos.
- Controle de qualidade dos produtos existentes.

Tipos de análise





Tipos de análise

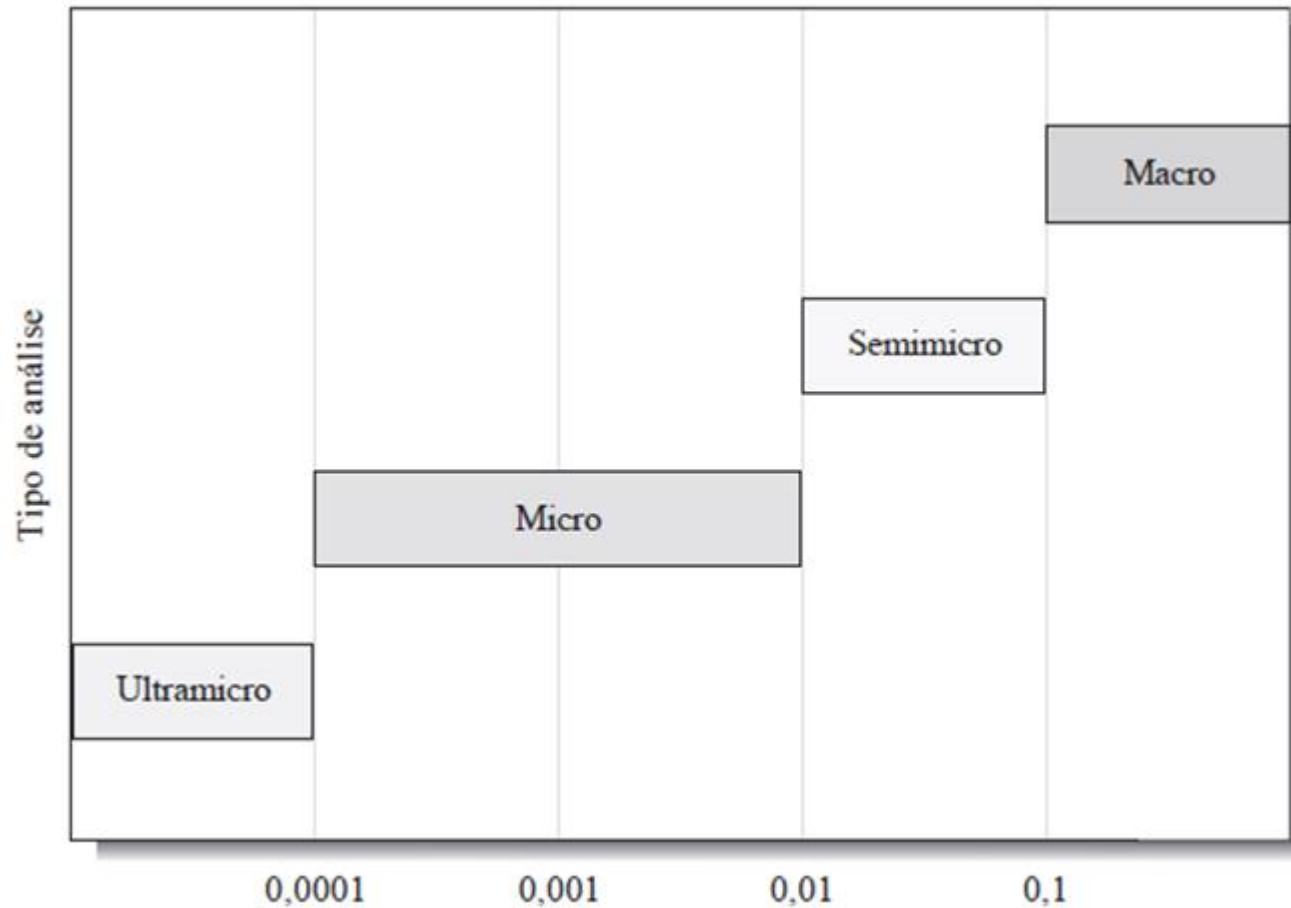
Exercício extra sala

Análise
qualitativa

Análise
quantitativa

- Procurar em artigos científicos ou análises de rotina em indústrias
- Preparar um slide por grupo – contendo referências utilizadas
- Será escolhido um membro do grupo para apresentação

Análises classificadas de acordo com a dimensão da amostra



Análises classificadas de acordo com a concentração do analito

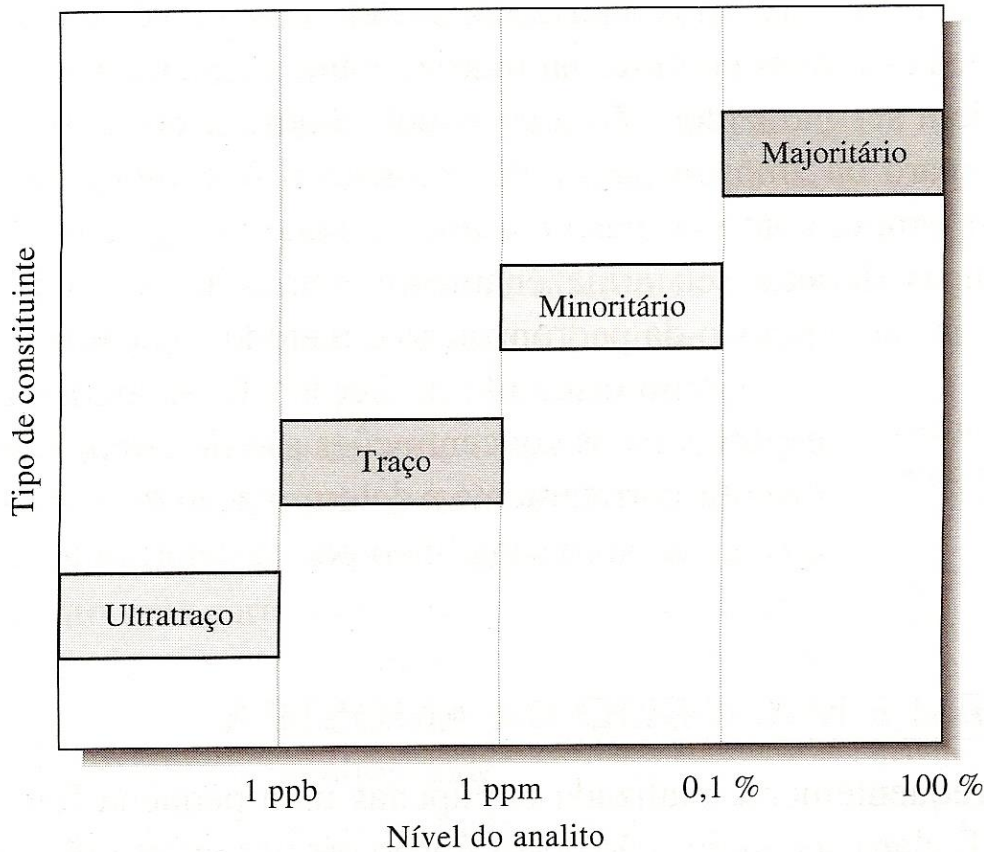


Tabela 3. Deposição de resíduos de aflatoxina, no fígado e na carcaça de alevinos de jundiá, alimentados por 45 dias no experimento I, e por 35 dias no experimento II, com rações com diferentes concentrações (ppb kg^{-1} de ração) de um pool de aflatoxinas.

Tecido analisado	Resíduo de aflatoxina B1 (ppb kg^{-1} de tecido)			
	Experimento I			
	0	41	90	204
Fígado	Nd	Nd	Nd	Nd
Carcaça	Nd	Nd	1,0	6,1
	Experimento II			
	0	350	757	1.177
Fígado	Nd	1,6	4,0	12,9
Carcaça	Nd	1,8	3,1	6,7

(1) Não detectado.

Fonte: LOPES et al., 2005.

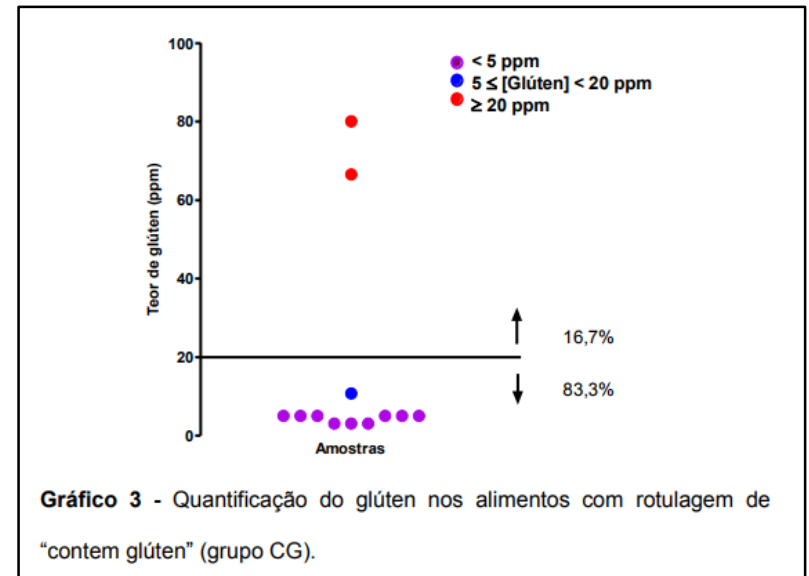
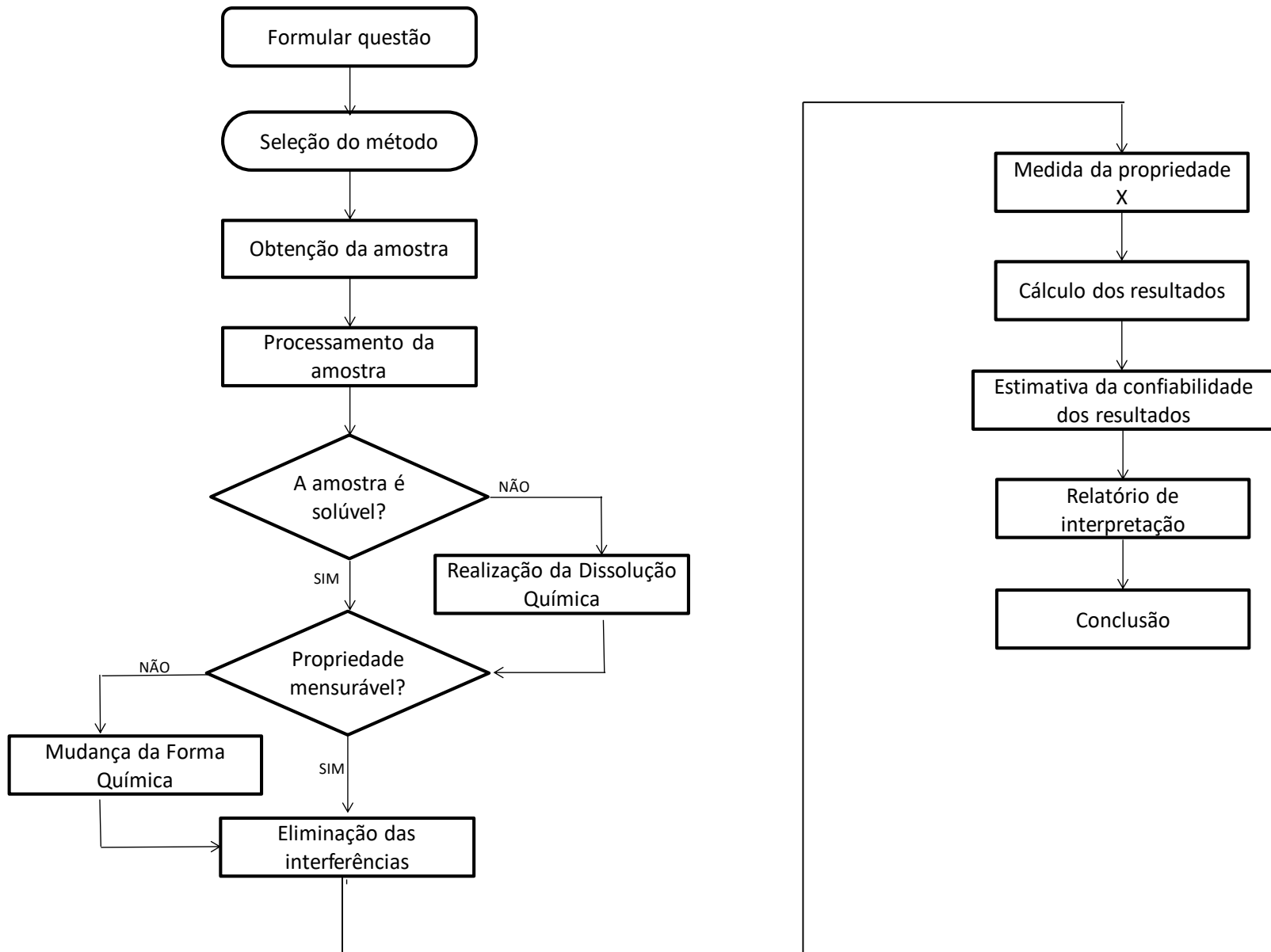


Gráfico 3 - Quantificação do glúten nos alimentos com rotulagem de "contem glúten" (grupo CG).

Fonte: SILVA, 2010.

Etapas gerais em uma análise química



Formular a questão

Propriedades Físicas



<http://envolverde.cartacapital.com.br/onu-e-governos-combatem-ingestao-de-sodio-e-alimentos-processados/>

Análises Químicas



Concentração de ferro



Concentração de sódio



Concentração de vitaminas



Concentração de proteínas



<http://envolverde.cartacapital.com.br/onu-e-governos-combatem-ingestao-de-sodio-e-alimentos-processados/>



<http://envolverde.cartacapital.com.br/onu-e-governos-combatem-ingestao-de-sodio-e-alimentos-processados/>

Selecionar procedimentos analíticos

1. Quantidade de amostra disponível:

Classificação para os métodos analíticos de acordo com o tamanho da amostra:

Classificação	Tamanho da amostra	Tipo de métodos
Macro	$\geq 0,1$ g	Convencionais
Meso (Semimicro)	10 – 100 mg	Instrumentais
Micro	1,0 – 10 mg	
Submicro	0,1 – 1 mg	
Ultramicro	$\leq 0,1$ mg	
Traços	100 a 10000 μm (ppm)	
Microtraços	10^{-7} – 10^{-4} μm	
Nanotraços	10^{-10} – 10^{-7} μm	

2. Quantidade do componente analisado:

Classificação dos componentes em relação ao peso total da amostra:

- Maiores: **>1%**
- Menores: **0,01 – 1%**
- Micro: **<0,01%**
- Traços: **(ppm e ppb)**

**Métodos
Convencionais**



gravimetria e
volumetria

**Métodos
Instrumentais**



equipamentos (pHmetro,
espectrofotômetro,
HPLC, GC, NIRs...)

3. Exatidão requerida:

Métodos clássicos: exatidão de até **99,9%** quando o analito encontra-se em mais de 10% na amostra.

Em quantidades <10% a exatidão cai significativamente, necessitando de **Métodos mais exatos e sofisticados.**

4. Composição química da amostra: presença de interferentes.

- Determinação de um componente predominante não oferece grandes dificuldades.
- Material de composição complexa necessidade de efetuar a separação dos interferentes potenciais antes da medida.

5. Recursos disponíveis: nem sempre é possível utilizar o melhor método:

\$ Custo

📄 Equipamento

🕒 Tempo

🗑️ Reagente

👤 Pessoal especializado


6. Número de amostras a analisar:

Muitas amostras – pode-se escolher métodos que requerem operações mais demoradas e trabalhosas, como a calibração de equipamentos, montagem de aparelhos e a preparação de reagentes, pois o custo destas operações se distribui sobre o grande número de amostras a analisar;

Poucas amostras – são preferíveis os métodos analíticos que permitem reduzir ao mínimo os preparativos preliminares e o custo da análise, ainda que o mesmo seja mais trabalhoso.

Exemplo de metodologias padronizadas

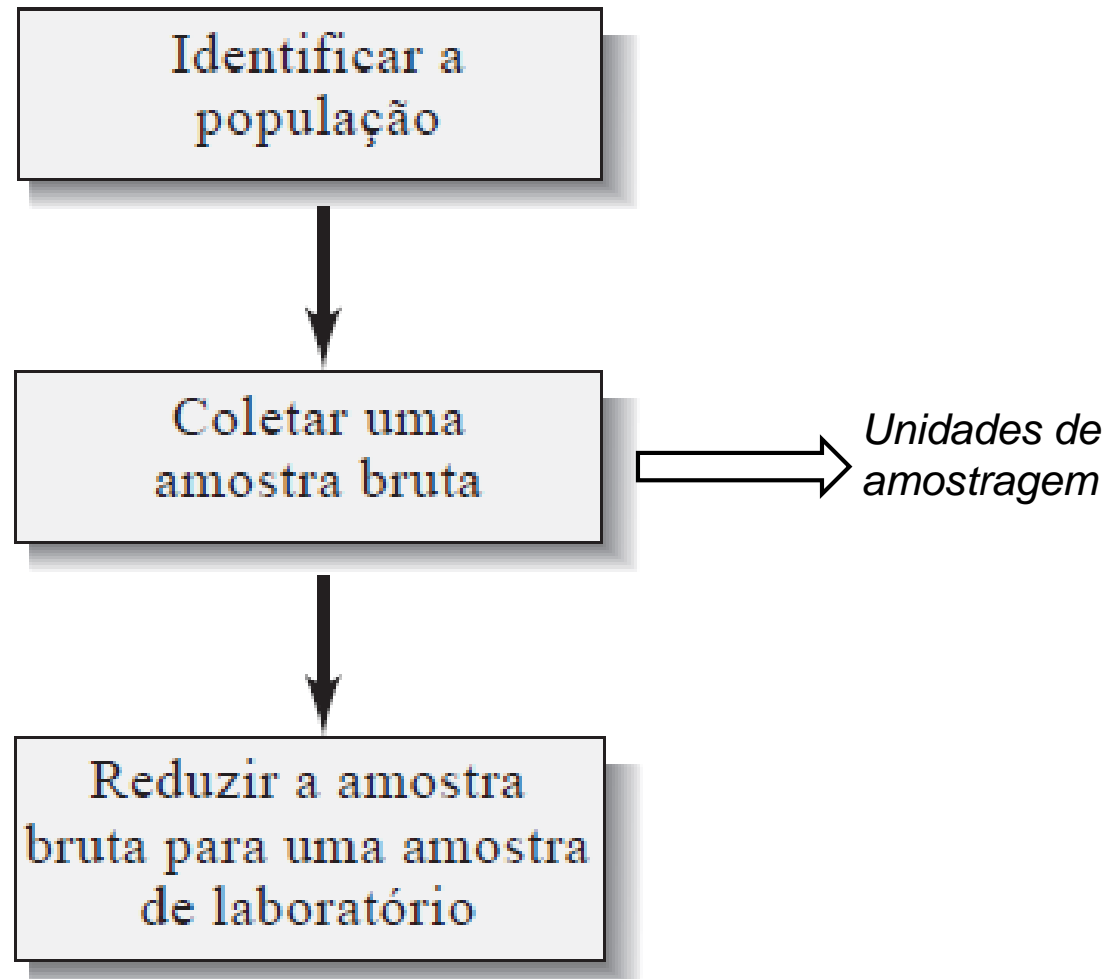
- AOAC (*Official Analytical Chemists International*): consiste no mais conhecidos e um dos mais completos *compendium* de análise de alimentos, o qual contém praticamente todo o tipo de análise (engloba produtos em geral) que se deseja realizar em alimentos;
- AACCC (*American Association of Cereal Chemists*): consiste no *compendium* específico de análise de cereais e seus subprodutos;
- AOCS (*American Oil Chemists' Society*): consiste no *compendium* específico de análise de óleos, gorduras e seus subprodutos;

- 
- Standart Methods for the Examination of Dairy Products: consiste no *compendium* específico de análise de leite e seus subprodutos;
 - Standart Methods for Examination of Water and Wastewater: consiste no *compendium* específico de análise de água e resíduos aquosos.
 - Instituto Adolfo Lutz
 - LANARA (Laboratório Nacional de Referência Animal)
 - Metodologias específicas descritas em Resoluções e Instruções Normativas (Ministério da Agricultura, Ministério da Saúde e ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária)

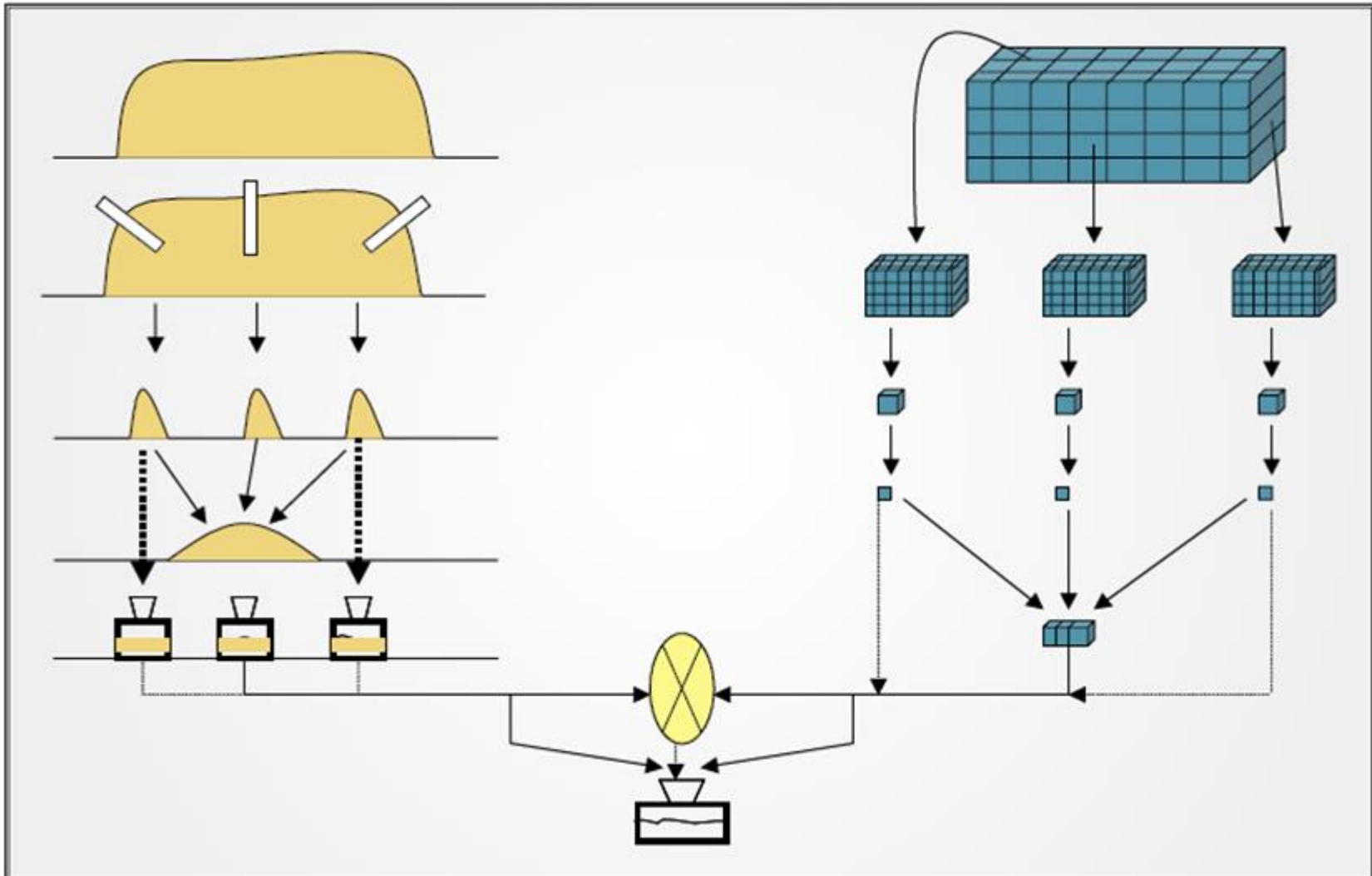
Amostragem

- Objetivo: coletar uma porção representativa para análise (uma imagem mais próxima do universo estudado);
- Simples ou complexa: certeza de que a amostra de laboratório é representativa do todo antes de realizar a análise”
- Etapa mais difícil e a fonte dos maiores erros. A confiabilidade dos resultados finais da análise nunca será maior que a confiabilidade da etapa de

Amostragem



Amostragem



Preparação da Amostra

Exemplo 1: Determinação de carotenóides em amostra de abóbora



- Análise em espectrofotômetro (450 nm)
- Curva de calibração utilizando β -caroteno como padrão
- Resultados expressos em base seca (mg de β -caroteno /100 g de amostra)

Preparação da Amostra

Exemplo 2: Extração de capsaicina em pimenta chili

Extração em fase sólida

<https://www.youtube.com/watch?v=CYyDVZPaZng>

Relatório de Interpretação dos resultados

A obtenção de resultados analíticos confiáveis não representa o final da análise química: o objetivo da análise é sempre alcançar alguma interpretação ou decisão.

Importante: replicatas para análises químicas devem sempre ser realizadas.

Table 5
The antioxidant capacities of mango seed kernel obtained from different extraction and hydrolysis conditions.^A

Conditions	Antioxidant efficiency Ferric thiocyanate method ($1/AA_{50}$)	Antiradical activity DPPH ($A_{AK}, 1/EC_{50}$)	ABTS activity (mmol of trolox/g)
Shaking (method 1)	0.014 ± 0.000^a	1.75 ± 0.15^a	1.03 ± 0.02^a
Refluxing (method 2)	0.016 ± 0.000^b	2.00 ± 0.24^a	1.14 ± 0.02^b
Acid hydrolysis (method 3)	0.019 ± 0.000^c	4.16 ± 0.51^c	1.41 ± 0.01^c

Means of three replicates \pm SD (standard deviation).

In each column, different superscripts mean significant differences ($P < 0.05$) between conditions.

^A Dry weight basis of the original sample of plant parts.

Valor

\pm

Desvio Padrão

Tipos de Erros

Toda medida possui uma certa incerteza que é denominada erro experimental.

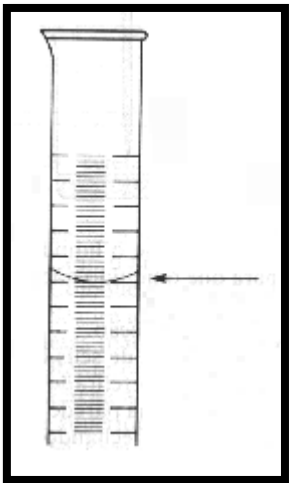
Portanto: os resultados de uma análise podem ser expressos com um alto ou com um baixo grau de confiança, mas nunca com completa certeza.

Tipos de Erros

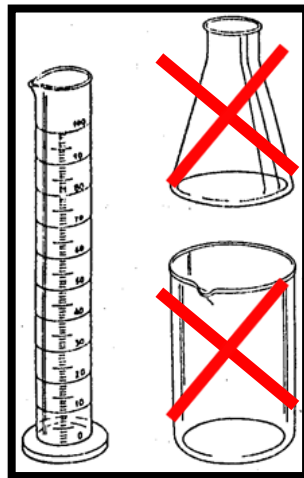
Classificação dos erros experimentais: erro sistemático e erro aleatório.

Erros sistemáticos (determinados)

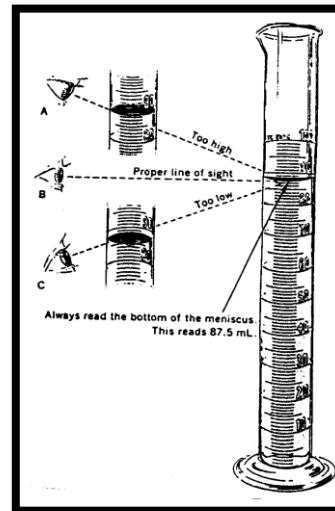
Instrumentais



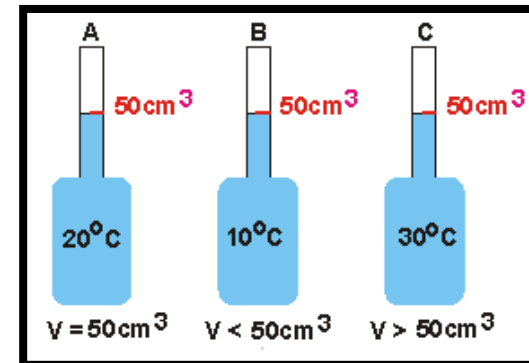
dos Métodos



Pessoais



Ambientais

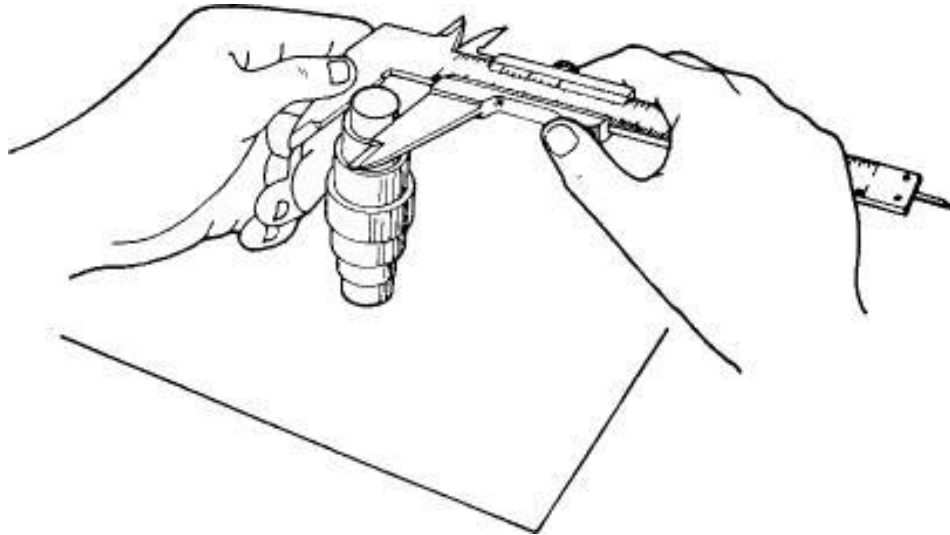


Tipos de Erros

Erros
aleatórios



Resultante do efeito de variáveis que não estão controladas (e que muitas vezes não pode ser controlada).



Precisão e Exatidão

Precisão

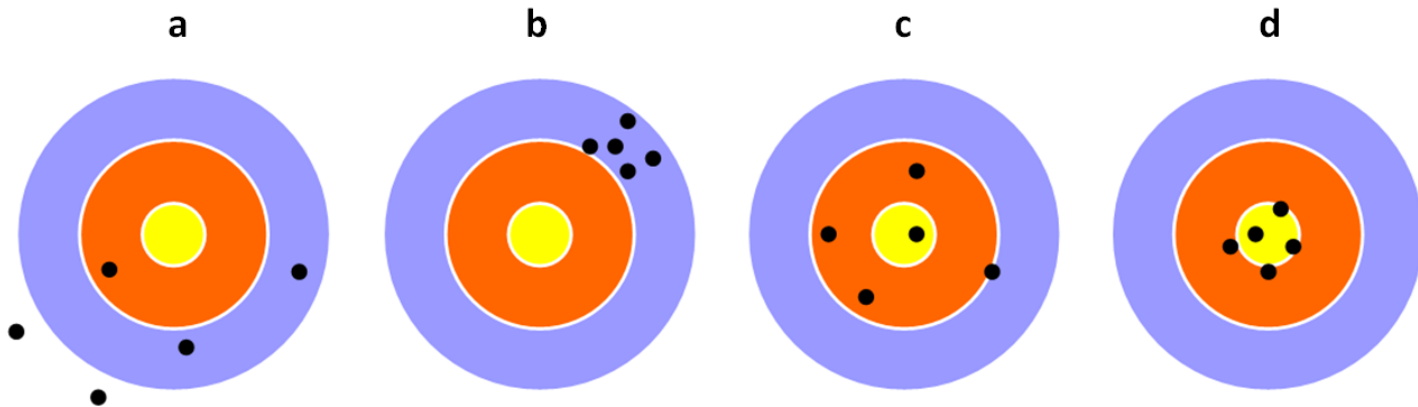


Medida da reprodutividade de um resultado.

Exatidão



Se refere a quão próximo um valor de uma medida está do valor real.



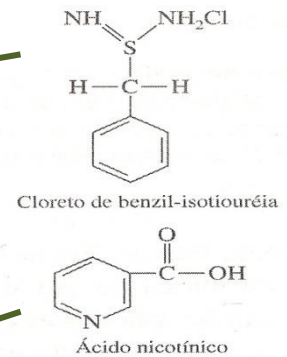
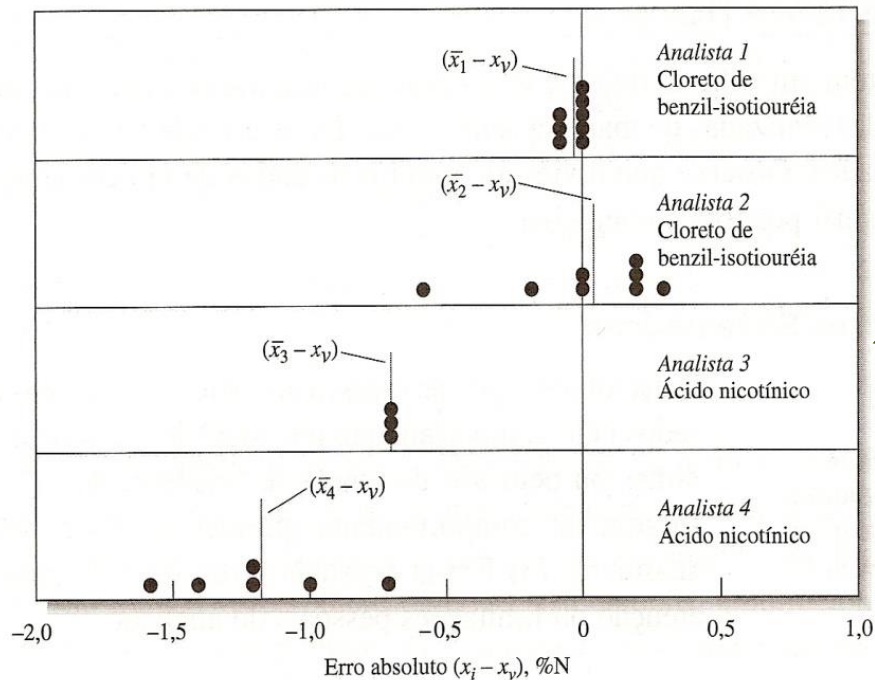
PRECISÃO: NÃO
EXATIDÃO: NÃO

PRECISÃO: SIM
EXATIDÃO: NÃO

PRECISÃO: NÃO
EXATIDÃO: SIM

PRECISÃO: SIM
EXATIDÃO: SIM

Exemplos de Erros



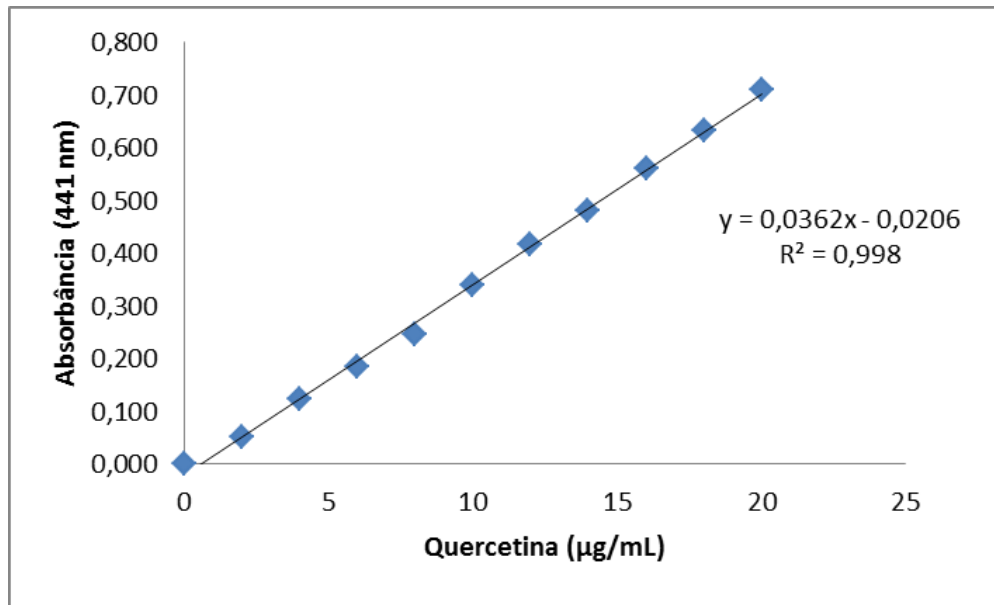
Pequenas quantidades de uma vitamina, o ácido nicotínico, comumente chamada *niacina*, ocorrem em todas as células vivas, sendo essenciais na nutrição de mamíferos. A vitamina é usada na prevenção e tratamento da pelagra.

Figura 5-3 Erro absoluto na determinação de nitrogênio por micro-Kjeldahl. Cada ponto representa o erro associado a uma única determinação. Cada linha vertical rotulada $(\bar{x}_i - x_v)$ representa o desvio médio absoluto do conjunto de dados, do valor verdadeiro. (Dados de C. O. Willits; e C. L. Ogg, *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.*, 1949, n. 32, 561. Com permissão.)

Curvas de calibração

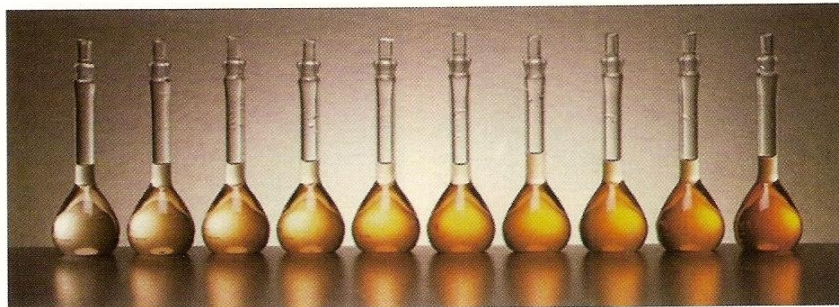
A - Padrão externo

- Preparado separadamente
- Calibrar instrumentos e procedimentos
- Não há efeitos de interferência de componentes da matriz



Exemplo: curva de calibração para análise de flavonoides utilizando quercetina como padrão.

A - Padrão externo



Série de padrões externos contendo o analito
(concentrações conhecidas)

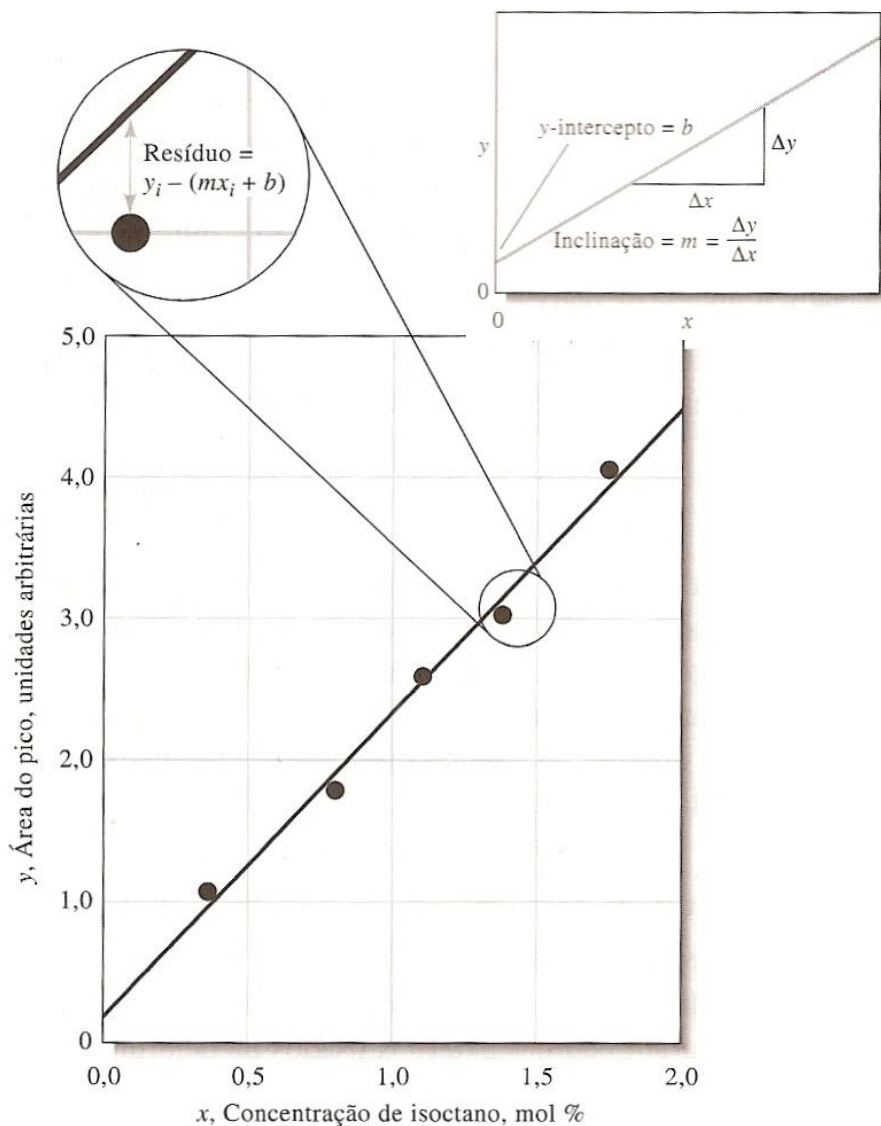


A calibração é realizada obtendo-se o sinal
(absorbância, área do pico, altura, outros)



Curva de calibração é preparada
(forma: gráfico ou ajuste por meio de equação matemática)

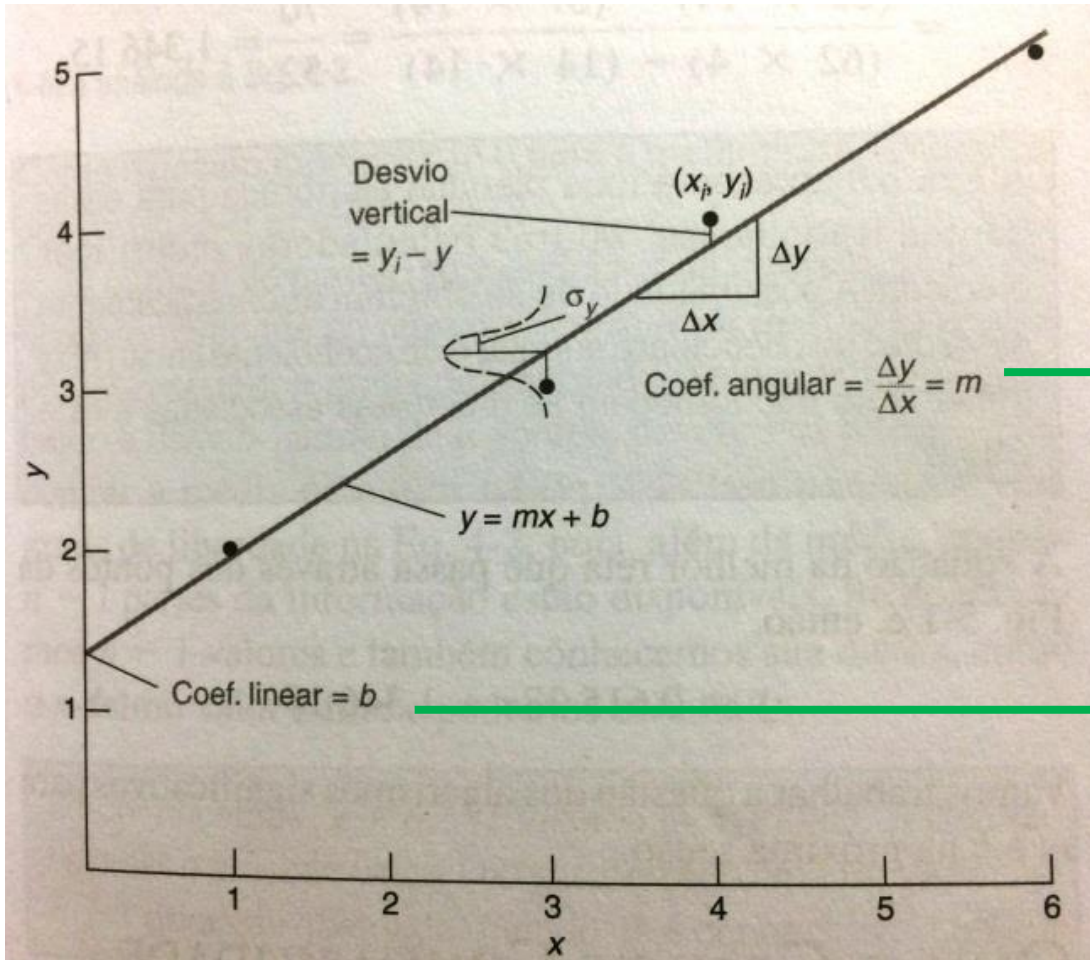
Método dos mínimos quadrados



CONSIDERAÇÕES

- ✓ Existe uma relação verdadeiramente linear entre a resposta medida e a concentração do padrão.
- ✓ Qualquer desvios de pontos individuais da linha reta é decorrente de erros na medida.

Quantidades úteis

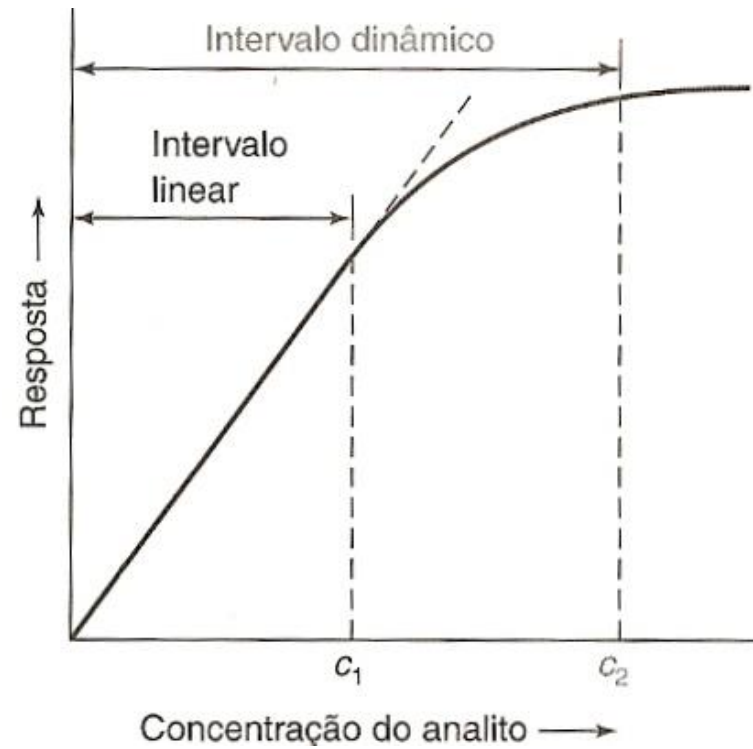
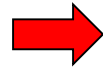


$$m = \frac{S_{xy}}{S_{xx}}$$

$$b = \bar{y} - m\bar{x}$$

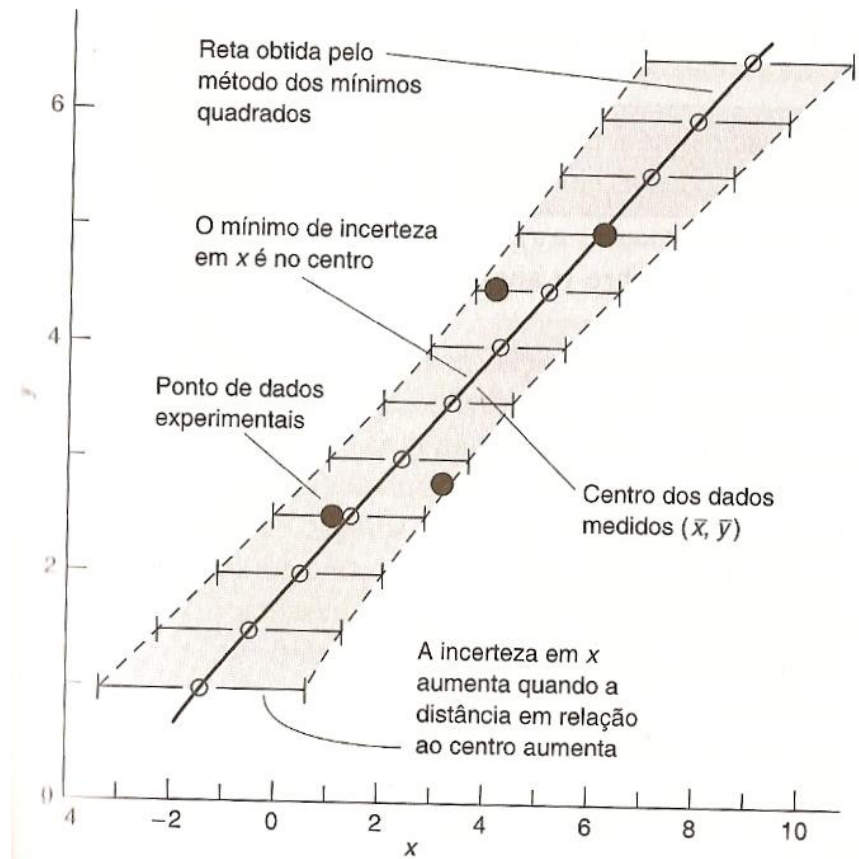
Considerações

Normalmente prefere-se procedimentos de calibração com uma resposta linear



Considerações

Existe alguma restrição para o cálculo de uma concentração de analito desconhecida utilizando-se uma curva de calibração?



B - Adição de padrão

- Quando adiciona-se um volume pequeno de padrão concentrado a uma amostra desconhecida, a concentração da matriz não muda.
- A partir do aumento de sinal deduzimos quanto de analito estava presente na amostra original.
- Extremamente útil quando a composição da amostra é desconhecida ou complexa e afeta o sinal do analito.

→ **Matriz:** tudo que existe na amostra além do analito.

→ **Efeito da matriz:** mudança no sinal analítico causado por qualquer coisa na amostra diferente do analito.

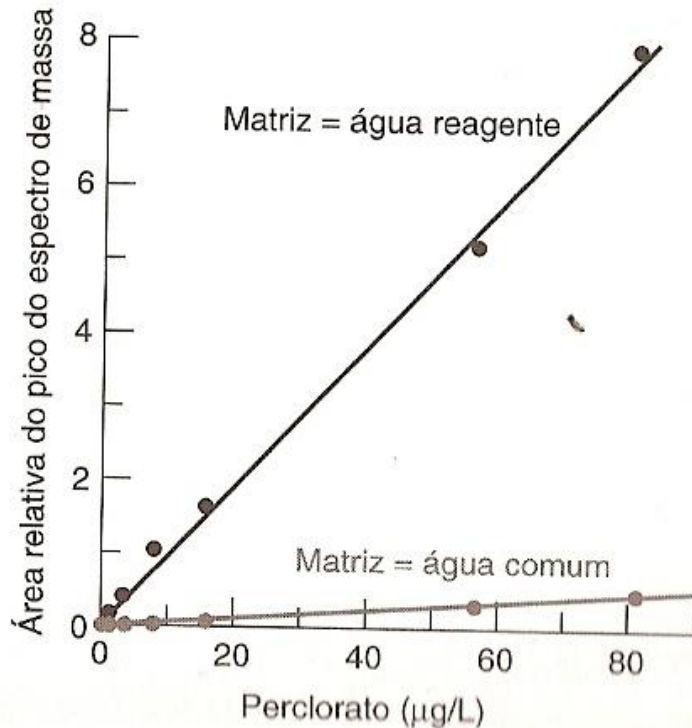
B – Adição de Padrão

Exemplo do efeito de matriz: análise de perclorato (ClO_4^-)



Concentração de perclorato $> 1,8\mu\text{g/L}$: pode reduzir a produção do hormônio da tireóide.

Considerações



- ✓ Águas provenientes de diferentes fontes possuem concentrações diferentes de ânions.
- ✓ Não existe uma maneira de produzir, para esta análise, uma curva de calibração que se aplique a qualquer tipo de água

B – Adição de Padrão

Tipos de métodos de adição do padrão

A) Método de adição de padrão de um único ponto.

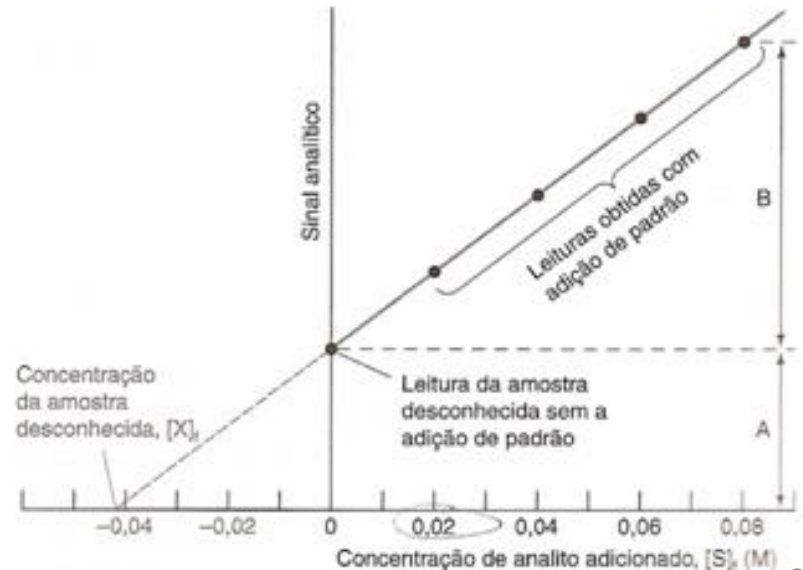
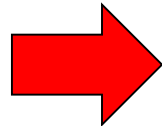
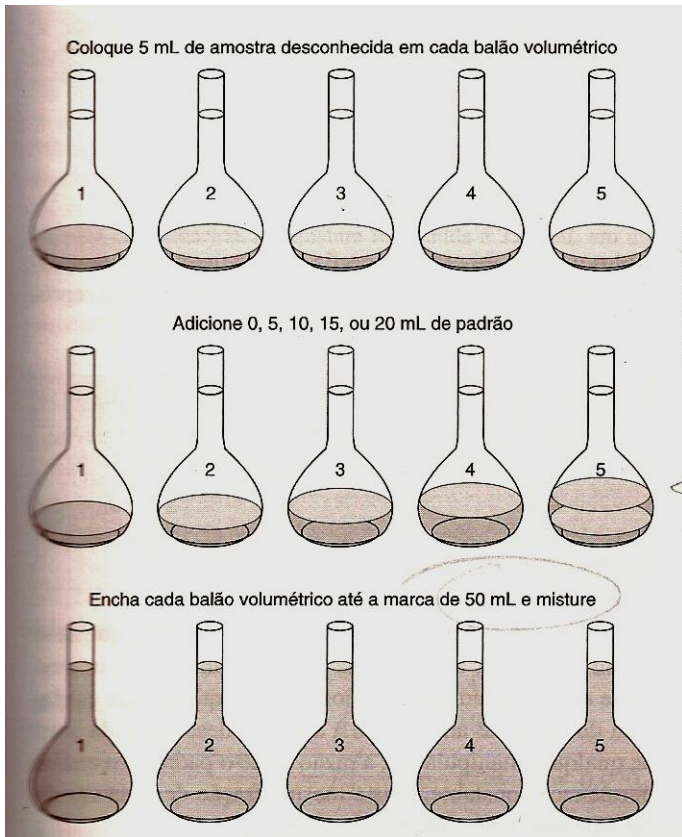
- Amostra com concentração inicial desconhecida de analito $[X_i]$: intensidade do sinal I_x
- Concentração conhecida de padrão (S) é adicionada a uma alíquota da amostra: intensidade do sinal I_{S+x} é observada.

$$\frac{\text{concentração de analito na solução inicial}}{\text{concentração de analito mais padrão na solução final}} = \frac{\text{senal da solução inicial}}{\text{senal da solução final}}$$

B – Adição de Padrão

B) Método das adições múltiplas.

- Adição de quantidades conhecidas de uma solução padrão em várias porções da amostra para um volume constante.



$$C_{\text{padrão}} = 0,200\text{M}$$

C – Padrão Interno

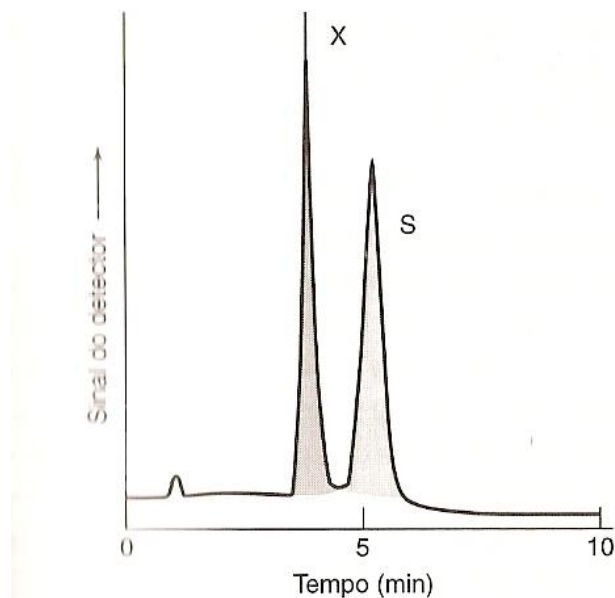
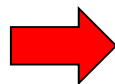
- ✓ Quantidade conhecida de uma espécie que atua como referência é adicionada a todas as amostras, padrões e brancos.
- ✓ São especialmente úteis para análises em que a quantidade de amostra analisada ou a resposta do instrumento varia ligeiramente a cada análise por razões difíceis de se controlar.
- ✓ Quando a resposta relativa de um instrumento ao analito e ao padrão permanece constante num determinado intervalo dizemos que a resposta é linear

C – Padrão Interno

- ✓ Pode ter vários tipos de erros sistemáticos e aleatórios.
- ✓ Se os sinais do analito e do padrão interno respondem proporcionalmente às flutuações aleatórias do método instrumental, a razão entre esses sinais é independente destas flutuações.
- ✓ Se os dois sinais são afetados da mesma maneira pelos efeitos da matriz, o efeito da matriz também é minimizado.

C – Padrão Interno

Separação cromatográfica da amostra desconhecida (X) e padrão interno (S).



Fator de resposta:

$$\frac{\text{Área do sinal do analito}}{\text{Concentração do analito}} = F \left(\frac{\text{área do sinal do padrão}}{\text{concentração do padrão}} \right)$$

$$\frac{A_X}{[X]} = F \left(\frac{A_S}{[S]} \right)$$

Considerações sobre Padrões

	Diferenças
Padrão externo	<ul style="list-style-type: none">- Apenas o padrão utilizado para construção da curva de calibração.
Adição de padrão	<ul style="list-style-type: none">- O padrão é a mesma substância que o analito.- Quantidades conhecidas do padrão são adicionados a amostra.
Padrão interno	<ul style="list-style-type: none">- O padrão é uma substância diferente do analito.- O padrão é adicionado a amostra desconhecida- O sinal do analito é comparado com o sinal do padrão interno.