

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNA

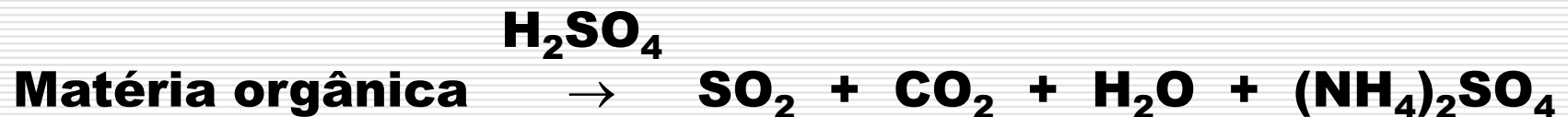
MÉTODO DE KJELDAHL

**Nitrogênio da amostra é transformado em amônio
Amônio é separado por destilação e dosado por titulação**

Primeira Etapa

Digestão: conversão do N orgânico a sulfato de amônio

Amostra + catalisador + H₂SO₄



COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNA

Segunda etapa

Destilação

Aquecimento direto ou arraste de vapor



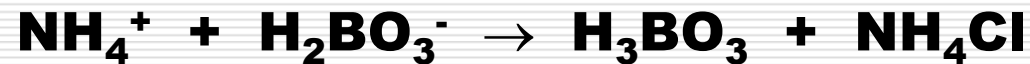
- NH_3 é recolhido em recipiente contendo ácido bórico



COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNA

Terceira etapa

Titulação de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{BO}_3$ com HCl M padronizado



%N = (HCl utilizado-branco) x M (molaridade) x 14 (PM do N) x 6,25 (FC) / massa da amostra x 100

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNA

ANÁLISE DO NITROGÊNIO

Considera que as proteínas têm 16% de nitrogênio em média

16 g N → 100 g proteína
***n* g N → *x* g proteínas**

$$x = \frac{n \times 100}{16} = n \times 6,25 \text{ g } \textit{proteínas}$$

Fator de conversão geral = 6,25

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNA

Teor proteico e fator específico para alguns alimentos

Alimentos	%N		N x 6,25	Fator específico	N x fator específico
	na proteína	no alimento			
Trigo	17,2	2,06	12,9	5,81	12,0
Aveia	17,2	1,68	10,5	5,83	9,8
Milho	16,0	1,54	9,6	6,25	9,6
Leite	15,8	0,53	3,3	6,33	3,4
Gelatina	18,0	1,46	9,12	5,55	8,1

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNA

VANTAGENS

- **Aplicável a qualquer alimento**
- **Simple e barato**
- **Exato**
- **Micro kjeldahl – mede quantidade de microgramas de proteínas**

DESVANTAGENS

- **O método determina nitrogênio total (proteico e não proteico)**
 - **Análise longa**
 - **Reagentes corrosivos**
-

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNA ANÁLISE POR GRUPOS

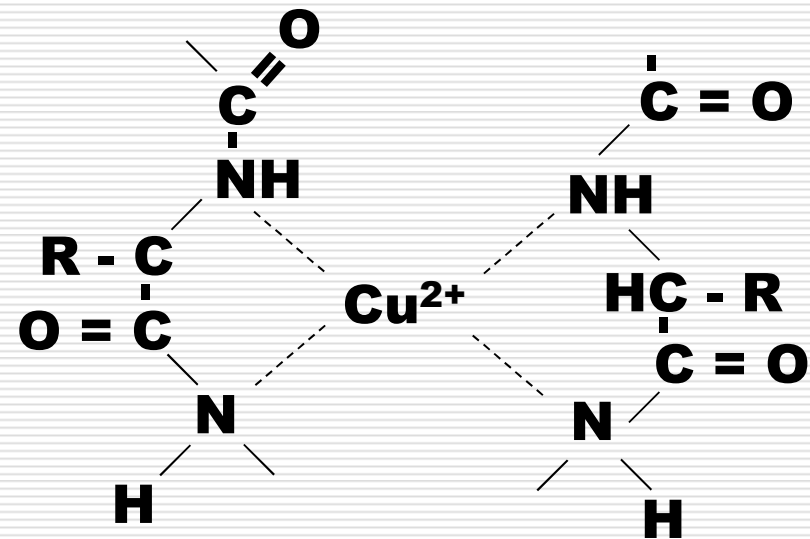
MÉTODO DE BIURETO

- **Íons cúpricos são complexados ligações peptídicas**
 - **Formação de complexos de cor púrpura**
 - **Meio deve ser alcalino**
 - **Espectrofotômetro UV / vis a 540 nm**
 - **Intensidade de absorvância é proporcional à concentração de proteína**
 - **Curva padrão – albumina de soro bovino**
-

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNA

ANÁLISE POR GRUPOS



Leitura de absorvância a 550 nm
Cor: púrpura

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNA ANÁLISE POR GRUPOS

MÉTODO DE BIURETO – VANTAGENS

- **Simples e barato**
 - **Rápido (30 minutos)**
 - **Pouco susceptível a interferentes**
 - **Detecta nitrogênio somente de fontes peptídicas**
-

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNA ANÁLISE POR GRUPOS

MÉTODO DE BIURETO – VANTAGENS

- **Requer de 2 a 4 mg de proteína para análise**
 - **Pigmentos e carotenóides interferem na absorbância**
 - **Açúcares redutores interferem (reduzem o cobre)**
 - **Interferências por altas concentrações de sais de amônio**
 - **Carboidratos e lipídeos – turbidez**
 - **Quantificação requer curva de calibração**
-

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNA ANÁLISE POR GRUPOS

MÉTODO POR FENOL – FOLLIN-CIOCALTEAU-LOWRY

- **Interação das proteínas com o reagente fenol e cobre em meio alcalino**
 - **Reação positiva para proteína contendo aminoácidos aromáticos com desenvolvimento de cor azul**
-

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNA ANÁLISE POR GRUPOS

MÉTODO POR FENOL – FOLLIN-CIOCALTEAU-LOWRY

VANTAGENS

- **Mais sensível que a determinação por UV (10 a 20 vezes)**
- **Mais sensível que a determinação por biureto (100 vezes)**
- **Específico**

DESVANTAGENS

- **Variação da intensidade da cor com a composição da proteína analisada em aminoácidos**
 - **Lento e destrutivo**
 - **Período de incubação entre a adição de reagentes**
 - **Necessidade de elaboração de curva padrão**
-

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNA ANÁLISE POR GRUPOS

MÉTODO POR ESPCTROFOTOMETRIA ULTRAVIOLETA

- **Proteínas: maioria apresenta absorção UV em 280 nm**

VANTAGENS

- **Rápido**
- **Simples**
- **Não destrutivo**

DESVANTAGENS

- **Não é muito preciso**
- **Interferência de ácidos nucleicos**
- **Preparo de amostra é longo**