

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS E NUTRIÇÃO EXPERIMENTAL**

**DISCIPLINA: BROMATOLOGIA BÁSICA (FBA-201)
2016**

PRÁTICA: Determinação de Proteína (semi-micro método de Kjeldahl)

Objetivo geral: Determinar a composição centesimal de uma dieta.

Objetivo específico: Determinar o teor de proteína de uma dieta.

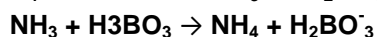
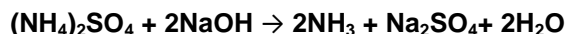
Fundamento: Proteínas e outros componentes da amostra são digeridos com H₂SO₄, na presença de catalisador, e o nitrogênio orgânico total convertido a sulfato de amônia [(NH₄)₂SO₄]. A amostra digerida é alcalinizada, destilada e recebida em ácido bórico. O íon borato formado é titulado com ácido padronizado, cuja quantidade consumida é convertida a nitrogênio.

Procedimento:

Digestão - Transferir para tubo apropriado, nesta ordem, 60±2mg de amostra seca e desengordurada, 1,9±0,1g de K₂SO₄ (eleva o PE da mistura de digestão), 50±10mg de CuSO₄ (catalisador) e 5,0±0,1mL de H₂SO₄ conc. Uma prova em branco (omitindo a amostra) deve ser determinada também. Digerir a amostra em bloco digestor a 400°C, por 2 h efetivas (depois de aumentar a temperatura de 100 em 100°C). Ao final, resfriar a amostra digerida (límpida). Na digestão, o N proteico é liberado, formando íons amônio; o ácido oxida a matéria orgânica e combina com a amônia formada; o C e H são convertidos a CO₂ e H₂O:

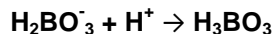


Destilação - Acoplar o tubo de digestão contendo a amostra digerida no equipamento KjelMaster já preparado para uso. Este libera 40 mL de água destilada e 60 mL de NaOH a 32% e inicia-se a destilação, recebendo o destilado em um recipiente de vidro contendo 50 mL de ácido bórico saturado (pH 4,65) e 4 gotas do indicador (vermelho de metila+azul de metileno). Destilar por aproximadamente 5 minutos.



(ac. bórico) (borato)

Após a destilação, ocorre a titulação do íon borato (proporcional à quantidade de N) com HCl 0,02N cujo fator de correção é conhecido.



Cálculo: determinar o volume gasto de HCl 0,02N (amostra – branco), corrigindo-o pelo fator de correção, e transformar o volume do ácido corrigido em nitrogênio: 1 mL de HCl 0,02N = 0,2802 mg de nitrogênio (1 mL da solução padrão de HCl a 0,1N equivale a 1,401 mg de nitrogênio). A partir disso, calcular o nitrogênio e a proteína contidos em 100g da amostra, considerando o fator 6,25, que significa que o nitrogênio encontrado corresponde a 16% da proteína total. Determinar o teor de proteína na amostra seca e desengordurada, na amostra seca e na amostra integral.

Bibliografia

Chang, SKC. Protein analysis. In: Nielsen, SS. (ed.). Food analysis. 2nd ed. Mariland. Chapman and Hall Food Science.. 1998. p.237-249.

Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. 13th ed. Washington. AOAC. 1980. p.858.