

Universidade de São Paulo
Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental-FCF
Disciplina de Bromatologia FBA0201

Prática: Determinação de Proteína (método de Kjeldahl)

Princípio:

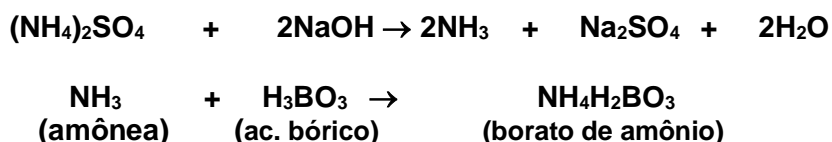
Proteínas e outros componentes da amostra são digeridos com H₂SO₄, na presença de catalisador, e o nitrogênio orgânico total convertido a sulfato de amônia [(NH₄)₂SO₄]. A amostra digerida é alcalinizada, destilada e recebida em ácido bórico. O íon borato formado é titulado com ácido padronizado, cuja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

Procedimento:

Digestão - Transferir para tubo apropriado, e nesta ordem, 0,060 ± 0,002 g de dieta desidratada desengordurada, 1,9 g de K₂SO₄ (eleva o ponto de ebulição do H₂SO₄), 0,050 g de CuSO₄ (catalisador) e 5 mL de H₂SO₄ conc. Digerir a amostra em bloco digestor a 350-400°C, por 3hs (depois de aumentar a temperatura de 100 em 100°C). Ao final, resfriar a amostra digerida (límpida) e adicionar 10 mL de água destilada. 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 destilador de Kjeldahl já preparado para uso. O aparelho liberará automaticamente mais 10 mL de água e 20 mL de NaOH a 32% e iniciar a destilação, recebendo o destilado em um frasco de 250 mL contendo 5 mL de solução de ácido bórico saturada, pH 4,65. Após o início a elevação do pH na solução de H₃BO₃, o aparelho recolhe o destilado por 2 minutos, iniciando, em seguida, a titulação com HCl 0,02N (padronizado com fator de correção fornecido pelos monitores)



Calculo: determinar o volume gasto de HCl 0,02, subtraindo o valor do Branco (análise feita apenas com os reagentes, para a subtração de possíveis interferências). O volume obtido deve ser multiplicado pelo fator de correção. Em seguida, transformar o volume do ácido corrigido em nitrogênio:

1 mL de HCl 0,02N = 0,2802 mg de nitrogênio

Multiplicar o valor obtido por 6,25. Essa será a quantidade de proteína presente na amostra que foi pesada

A partir disso, calcular a proteína contida em 100g da amostra SECA E DESENGORDURADA, em 100g da amostra SECA e em 100g da amostra INTEGRAL

Referências:

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