



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA INSTITUTO DE QUÍMICA
LICENCIATURA EM QUÍMICA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

RONALDO ALVES DA SILVA

**COMPARAÇÃO METODOLÓGICA PARA DETERMINAÇÃO DE CARBOI-
DRATOS E AMIDO EM PRODUTOS DE ORIGEM DE PROTEÍNA ANIMAL**

UBERLÂNDIA/MG

2023

RONALDO ALVES DA SILVA

COMPARAÇÃO METODOLÓGICA PARA DETERMINAÇÃO DE CARBOIDRATOS E AMIDO EM PRODUTOS DE ORIGEM DE PROTEÍNA ANIMAL

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para obtenção do título de Licenciado em Química.
Área de concentração: Química

Orientador: Deividi Márcio Marques

UBERLÂNDIA/MG

2023

RESUMO

Este trabalho visa comparar dois métodos quantitativos para determinação de carboidratos solúveis totais e amido em produtos de origem animal processados e, também, por meio de ferramentas estatísticas determinar qual deles é mais eficiente, além de discorrer qual deles se adequaria melhor a um processo produtivo de acordo com a sua demanda. Para tal, foi utilizado o método de reação com antrona, cujo resultado analítico é determinado instrumentalmente e o método de Lane-Eynon, que é um método titulométrico que tem por base a visualização da coloração da solução após a redução do Cobre (Cu^{2+}). A metodologia utilizada foi a execução dos dois métodos por cinco diferentes analistas em ambiente laboratorial e posterior estudo estatístico para avaliar os resultados obtidos e determinar a eficiência dos métodos. Como esperado, o método instrumental apresentou resultados mais concisos quando comparado ao método titulométrico, já que o resultado é dado pelo instrumento e demanda um menor grau de interpretação analítica do analista, porém, o método titulométrico também apresentou excelentes resultados com baixa variação.

Palavras-chave: Carboidratos; amido; antrona; Lane-Eynon.

Abstract

This work aims to compare two quantitative methods for harvesting total soluble carbohydrates and starch in processed animal products and using statistical tools, to determine which one is more efficient, in addition to discovering which one would be better suited to a production process according to your demand. For this, the method of reaction with anthrone was used, whose analytical result is instrumentally determined, and the Lane-Eynon method, which is a titrimetric method based on the visualization of the color of the solution after the reduction of Copper (Cu^{2+}). The methodology used was the execution of the two methods by five different analysts in a laboratory environment and subsequent statistical study to evaluate the results obtained and determine the efficiency of the methods. As expected, the instrumental method presented more concise results when compared to the titrimetric method, since the result is given by the instrument and requires a lower degree of analytical interpretation by the analyst, however, the titrimetric method also presented excellent results with low variation.

Keywords: Carbohydrates; starch; anthrone; Lane-Eynon.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Molécula de Glicose	13
Figura 2 - Moléculas de Gliceraldeído e hidroxiacetona.....	14
Figura 3 - Síntese de formação da sacarose.....	15
Figura 4 - Molécula de amido	16
Figura 5 - Moléculas de amilose e amilopectina	17
Figura 6 - Figura 6: Reação com reagente de Fehling e Tollens.....	18
Figura 7 - Hidrólise ácida da sacarose.....	19
Figura 8 - Reação da glicose como o reagente de Fehling (hidróxido de sódio, sulfato de cobre e tartarato neutro de potássio).....	21
Figura 9 - Reação da glicose com a antrona em meio ácido	21
Figura 10 - Alvo de ilustração de precisão e exatidão.....	22
Figura 11 - Tabela Nutricional da amostra do produto A	39
Figura 12 - Tabela Nutricional da amostra do produto B.....	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros físico químicos estabelecidos para mortadela	11
Tabela 2 - Absorbâncias para a solução de glicose (Analista 1)	28
Tabela 3 - Concentração de amido nas amostras obtida pelo analista 1.....	29
Tabela 4 - Concentração de carboidratos nas amostras obtida pelo analista 1	30
Tabela 5 - Resultados para carboidratos obtidos pelo Analista 1	31
Tabela 6 - Percentual de Amido obtido pelo Analista 1	31
Tabela 7 - Média geral método Lane Eynon (amido).....	32
Tabela 8 - Média geral método Lane Eynon (carboidratos)	32
Tabela 9 - Média geral espectrometria (amido).....	32
Tabela 10 - Resultado geral espectrometria (carboidratos)	33
Tabela 11 - Desvio Padrão e coeficiente de variação nos resultados por titulometria	34
Tabela 12 - Desvio Padrão e coeficiente de variação nos resultados por espectrometria	35
Tabela 13 - Erro relativo no método de Lane-Eynon	36

Tabela 14 - Erro relativo no método espectrométrico	36
Tabela 15 - Recuperação do amido	37
Tabela 16 - Recuperação do analito em função da concentração.....	38

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	11
1.1.	Produtos cárneos processados.....	11
1.2.	CARBOIDRATOS	13
1.2.1.	Monossacarídeos.....	14
1.2.2.	Dissacarídeos	14
1.2.3.	Polissacarídeos.....	15
2.	AMIDO	16
2.1.	Reações químicas com carboidratos	17
2.1.1.	Açúcares redutores (AR).....	17
2.1.2.	Açúcares não redutores	18
3.	MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DE CARBOIDRATOS TOTAIS E AMIDO	19
3.1.	O método de Lane-Eynon (reação de fehling).....	20
3.2.	O método de carboidratos solúveis por espectrometria (reação com antrona).....	21
4.	FUNDAMENTOS DE ANÁLISES ESTATÍSTICAS PARA VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA	22
4.1.	Precisão e exatidão.....	22
5.	OBJETIVOS.....	23
5.1.	Objetivo geral.....	23
5.2.	Objetivos específicos	23
6.	METODOLOGIA	23
6.1.	Determinação de Carboidratos solúveis totais e Amido por espectrometria (reação com antrona) (Referência da metodologia: Manual de Métodos oficiais do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento ed. 2; Parte I)	24
6.1.1.	Procedimento	25
6.1.2.	Determinação de carboidratos totais e amido por Lane Eynon (Reação de Fehling)	26
6.1.3.	Materiais e Reagentes	26
6.1.4.	Procedimento amido	27
6.1.5.	Procedimento carboidratos totais	27

7. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
7.1. Resultados de amido e carboidratos solúveis totais pelo método espectrométrico.....	28
7.2. Construção da curva analítica	28
7.3. Resultados de Amido e Carboidratos solúveis totais pelo método titulométrico de Lane Eynon	30
7.4. Resultado geral.....	31
7.5. Avaliação dos resultados.....	33
8. CONCLUSÃO	38
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41

1. INTRODUÇÃO

A indústria alimentícia visa atingir padrões de produtos cuja composição tenha um custo-benefício apropriado, aliado a quesitos como segurança alimentar e satisfação do consumidor em relação ao produto, necessitando assim de rígidos controles de Qualidade (NOGUEIRA; DAMASCENO, 2016, p. 85).

Dentre os diversos ramos da indústria alimentícia, o setor destinado a produção de proteína animal tem se destacado perante as demais atividades econômicas no Brasil. A Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA) registrou uma produção recorde de 14,3 milhões toneladas de frangos e suínos no Brasil só em 2021, e projetam um volume ainda maior para os anos seguintes mesmo com o cenário da pandemia do coronavírus (CANAL RURAL, 2022).

1.1. Produtos cárneos processados

Os produtos cárneos processados são definidos como aqueles nos quais as propriedades da carne fresca foram modificadas mediante o emprego de uma ou mais técnicas como: trituração, adição de condimentos, modificação da cor ou tratamento térmico, dentre outros (DUTRA; SILVA, 2013). Comparado aos produtos *in natura*, os produtos cárneos processados têm como característica a maior facilidade de obtenção da padronização devido a adição manual ou mecânica de aditivos durante a sua produção, sendo estes dosados e controlados com medidas específicas para atender especificidades dos produtos e tabela nutricional (DUTRA; SILVA, 2013). Porém, existem normas vigentes que estabelecem certos parâmetros a serem seguidos. Na mortadela, por exemplo, a instrução normativa nº 4, de 31 de março de 2000 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), estabelece os seguintes parâmetros físico químicos para o produto, conforme tabela 1 (MAPA, 2020):

Tabela 1 - Parâmetros físico químicos estabelecidos para mortadela

Características Físico-Químicas	(%)
Carboidratos Totais (máx.)	10% - Mortadelas Bologna e Italiana (máx.) 3%.
Amido (máx.)	5%
Umidade (máx.)	65%
Gordura (máx.)	30%
Proteína (mín.)	12%

Fonte: MAPA, 2020

Perante o mesmo órgão, o empanado de frango é especificado com um teor máximo de carboidratos de 30% e proteína mínima de 10%.

Os principais os ingredientes utilizados no processamento dos produtos cárneos são (DUTRA; SILVA, 2013):

- *Cloreto de sódio (sal)*: usado para dar sabor ao produto. Dependendo da quantidade utilizada, pode apresentar a função de inibir o crescimento de alguns microrganismos.
- *Nitrito e/ou nitrato*: usado para proporcionar uma cor rósea agradável ao produto, e inibir o crescimento de microrganismos patogênicos.
- *Carboidratos*: confere sabor ao produto, além de aumentar sua suculência devido a algumas reações que ocorrem a nível molecular.
- *Fosfatos*: são usados para ajudar a reter a água do produto, e estabilizar a gordura.
- *Ascorbatos*: são usados para firmar a cor do produto e para ajudar a evitar o aparecimento de ranço.

Os micronutrientes, compreendem na maior parte de vitaminas e minerais, estão presentes nos alimentos em pequenas quantidades são importantes para manter funções vitais nas células; e os macronutrientes, sendo majoritariamente carboidratos, proteínas e gorduras, são fatores exógenos essenciais para a produção de glicose, fonte de energia para o organismo humano (SEYFFARTH, 2007).

A estabilidade dos produtos cárneos processados não depende apenas das proteínas, mas também da adição dos ingredientes não-cárneos mencionados acima. Por isso, diferentes fontes de origem não-cárnea são largamente utilizadas na elaboração de produtos emulsionados, com a finalidade de melhorar as propriedades funcionais e a estabilidade, bem como aumentar a qualidade nutricional e minimizar os custos de produção (BAPTISTA et al., 2008). A maioria desses insumos é da classe dos carboidratos, como amidos e hidrocolóides.

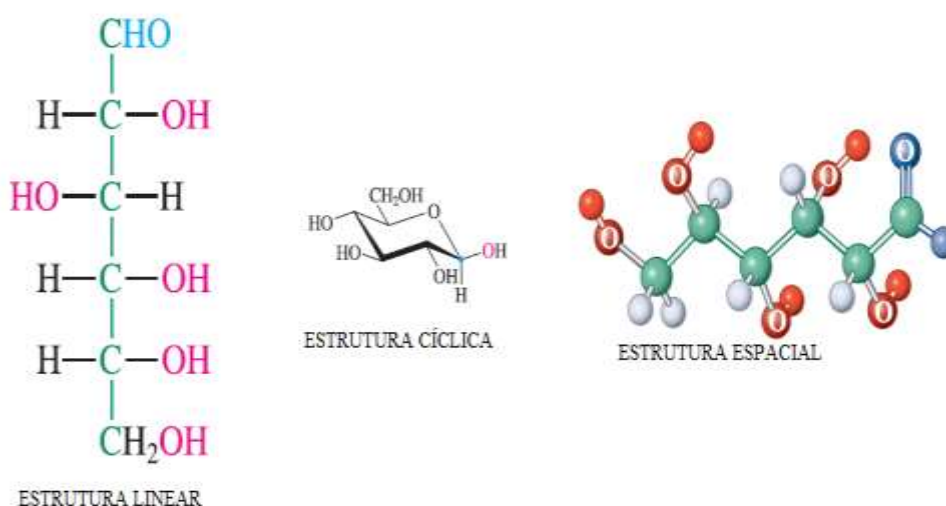
O amido é um constituinte de baixo custo que ajuda a preservar água no produto e pode substituir a gordura em produtos que se enquadram no conceito “*low-fat*” (PEDROSO, 2006). Além disso, pode ser usado para atingir uma determinada consistência desejada para um produto. ABREU (2013) explica que ao absorver água, o amido perde estrutura granular permitindo a formação de soluções viscosas ou de géis, possibilitando o uso desta substância como espessante alimentar (ABREU, 2013). O amido normalmente não é expresso individualmente na tabela nutricional, sendo mais comum apresentar a quantidade de carboidratos totais.

1.2. CARBOIDRATOS

A palavra carboidrato, historicamente, deriva do fato de que a glicose, o primeiro carboidrato simples a ser obtido puro, possui a fórmula molecular $C_6H_{12}O_6$ e, originalmente, acreditava-se que era um “hidrato de carbono” $C_6(H_2O)_6$ (MCMURRY, 2013).

Além da função energética, os carboidratos atuam na composição da estrutura de paredes celulares e sinalizadores do organismo, sendo ela a biomolécula mais abundante disponível (FRANCISCO, 2007). A figura 1 mostra a molécula de glicose em suas representações estruturais:

Figura 1 - Molécula de Glicose



Fonte: VOLLHARDT; SCHORE (2013)

Alguns carboidratos (açúcar e amido) são os principais elementos da dieta em muitas partes do mundo, e sua oxidação é a principal via de produção de energia na maioria das células não fotossintéticas (NELSON; COX, 2014).

Há duas classes de carboidratos: Os carboidratos simples e os carboidratos complexos. Os carboidratos simples são os monossacarídeos (açúcares simples), já os carboidratos complexos possuem duas ou mais unidades de açúcares interligadas. Os dissacarídeos têm duas subunidades de açúcar interligadas, os oligossacarídeos têm de 3 a 10 subunidades de açúcar interligados e os polissacarídeos têm mais de 10 açúcares interligados. Os carboidratos complexos podem quebrados em subunidades de monossacarídeos através de hidrólise (BRUICE, 2010).

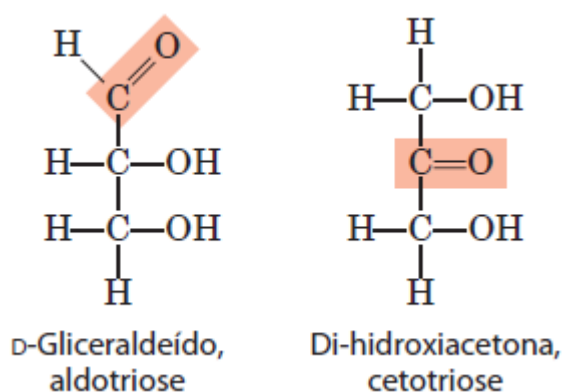
1.2.1. Monossacarídeos

Monossacarídeos tem como característica o estado sólido cristalino, são solúveis em água, insolúveis em solventes apolares e a maioria possui sabor adocicado. Nos monossacarídeos comuns, sua estrutura molecular possuem cadeias de carbono não ramificadas onde todos os átomos de carbono presentes fazem ligações simples entre si (NELSON; COX, 2014).

Os monossacarídeos, como a glicose e a frutose, são considerados açúcares simples, já que não podem ser convertidos em moléculas menores de açúcar por meio de hidrólise. Sua classificação posterior é dada como aldoses e cetoses, onde o prefixo *-ose* o designa como um carboidrato e *aldo-* e *ceto-* fazem referência ao tipo de grupo carbonila presente na molécula, para os casos de aldeído e cetona. Os açúcares simples mais comuns são aldoses e pentoses (5 átomos de C) (MCMURRY, 2013).

A figura 2 mostra dois exemplos de monossacarídeos, destacando as funções aldeído e cetona respectivamente:

Figura 2 - Moléculas de Gliceraldeído e hidroxiacetona



Fonte: NELSON; COX (2014)

1.2.2. Dissacarídeos

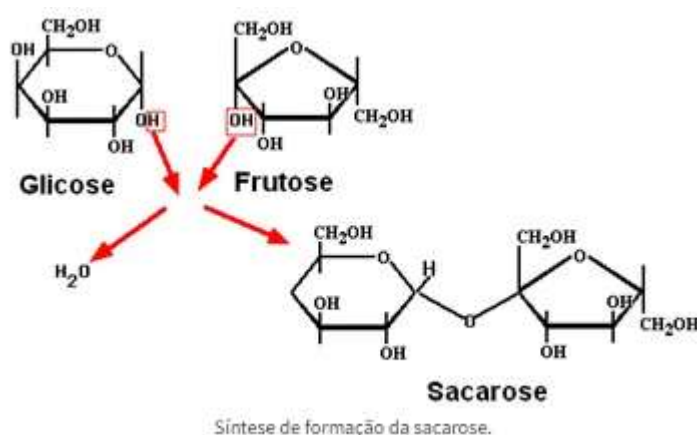
Quando ocorre a ligação de duas ou mais moléculas de açúcar, estes são classificados como carboidratos complexos. Os dissacarídeos são provenientes da ligação entre dois monossacarídeos (descritos acima) por meio de ligações acetal (Hidroxila de um hemiacetal protonada, liberando água). O exemplo mais comum do dia a dia é a sacarose, conhecida como açúcar comum ou açúcar refinado, que é um dissacarídeo proveniente da ligação entre uma glicose e uma frutose (MCMURRY, 2013).

A sacarose, também chamada de açúcar de mesa, é o açúcar mais consumido em todo o mundo. Nos EUA, o consumo médio deste produto é de cerca de 80 Kg/pessoa por ano, com

produção mundial média de 150 milhões de toneladas anuais. Este produto tem como algo atípico a característica de ser um dos poucos produtos químicos naturais consumidos em sua forma não modificada, sendo extraído principalmente da cana de açúcar e da beterraba, a qual o açúcar corresponde em média entre 14 a 20% do seu peso (VOLLHARDT; SCHORE, 2013).

A figura 3 mostra a síntese de desidratação para a formação de um dissacarídeo, neste caso a sacarose, conforme descrito no primeiro parágrafo:

Figura 3 - Síntese de formação da sacarose



Fonte: SANTOS (2016)

1.2.3. Polissacarídeos

Os polissacarídeos se encaixam na classificação de carboidratos complexos, onde dezenas, centenas ou até milhares de açúcares simples se unem por meio de ligações glicosídicas. Dois dos polissacarídeos mais recorrentes e quimicamente conhecidos são a celulose, na qual dá rigidez estrutural às plantas; e o amido, um polímero de glicose que está presente em diversos vegetais como a batata, milho e outros grãos de cereais. Ambos os exemplos de polissacarídeos citados possuem vasta utilidade, sendo a celulose primária componente do algodão, gramíneas e folhas e o amido fonte de energia para os animais e humanos por meio da digestão na boca e estômago, onde enzimas como a alfa-glicosidase catalisa a hidrólise do amido liberando moléculas individuais de glicose (MCMURRY, 2013).

Esse tipo de carboidrato possui uma função extremamente importante para a vida animal e vegetal, pois muitos polissacarídeos fazem parte da composição de paredes celulares e da matriz extracelular. O amido e o glicogênio têm a função de fornecer energia para as células em animais, vegetais e bactérias; a celulose tem função importante na rigidez da estrutura de vegetais e a quitina compõe o exoesqueleto de diversos tipos de artrópodes. Além disso, em

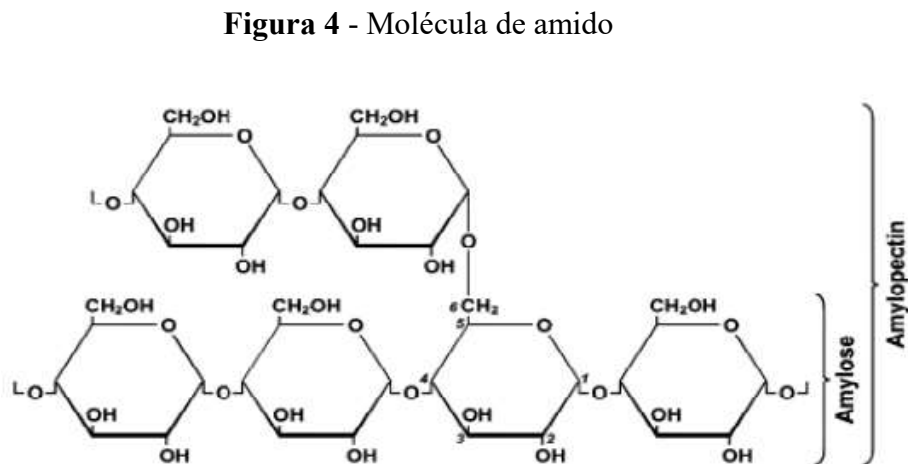
alguns tipos de organelas, polissacarídeos funcionam como comunicadores entre a célula e a matriz celular ao redor (NELSON; COX, 2014).

2. AMIDO

O amido é um dos principais carboidratos presentes na dieta humana, sua digestão começa na boca por meio de quebra enzimática pela enzima alfa-amilase e posteriormente no estômago como parte do processo digestivo. Sua estrutura contém dois tipos de polímeros de glicose, amilose e amilopectina. A amilose consiste em cadeias longas, não ramificadas, de resíduos de D-glicose conectadas por ligações ($\alpha 1 \rightarrow 4$), já a amilopectina possui um número elevado de ramificações a assim como a amilose possui elevado peso molecular, até 200 milhões. O amido é um polissacarídeo e seu armazenamento é especialmente abundante em tubérculos, como batata e outros, e em sementes (NELSON; COX, 2014).

A figura 4 mostra uma unidade molecular do amido:

Figura 4: Molécula de amido

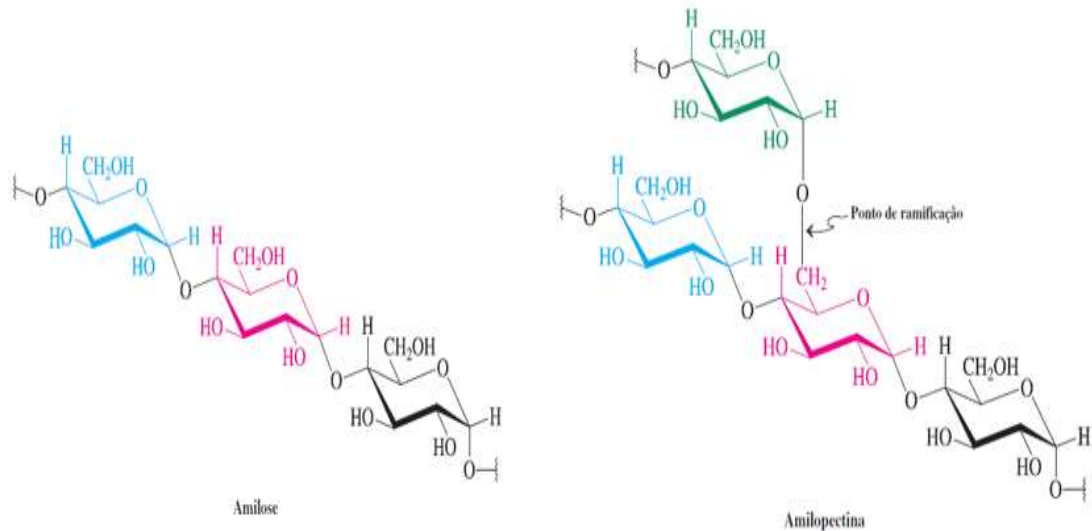


Fonte: PURGATTO, TORRES (2016)

A separação desses dois componentes é facilmente alcançada a partir de adição de água quente, que faz com os grãos de amido inchem ocasionando um fracionamento de aproximadamente 20% de amilose e 80% de amilopectina, sendo ambos solúveis em água quente, porém a amilose é um pouco menos solúvel em água fria. O amido, assim como a celulose, pode ser facilmente quebrado em moléculas de glicose a partir da reação com ácido diluído (hidrólise do amido) (VOLLHARDT; SCHORE, 2013).

A figura 5 mostra a estrutura cíclica da amilose e da amilopectina:

Figura 5 - Moléculas de amilose e amilopectina



Fonte: VOLLHARDT; SCHORE (2013)

2.1. Reações químicas com carboidratos

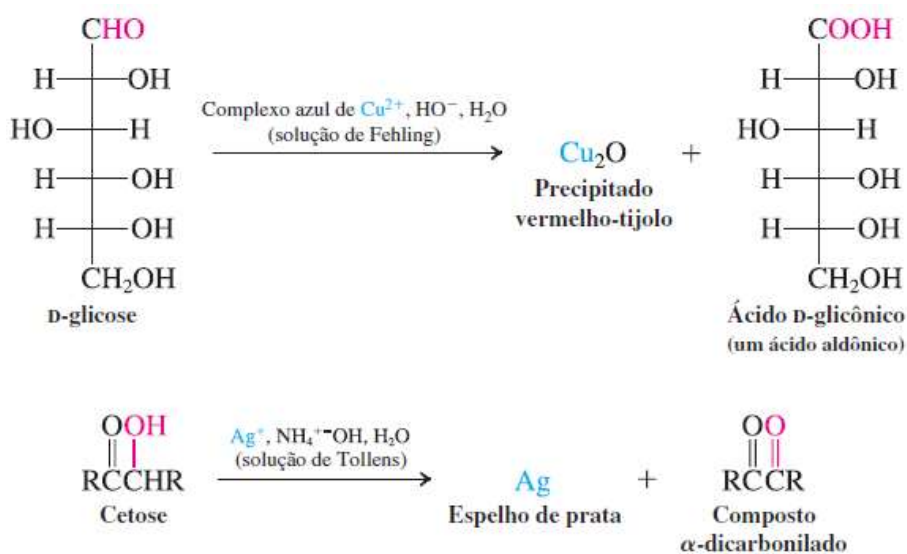
2.1.1. Açúcares redutores (AR)

O íon cúprico (Cu^{2+}), relativamente suave, é um dos agentes capazes de oxidar os monossacarídeos, onde ocorre a oxidação do carbono do carbonil, convertendo-o em um grupo carboxil. Os açúcares que são capazes de reduzir o íon cúprico, dentre eles a glicose, tornando-os uma mistura complexa de ácidos carboxílicos, são chamados de açúcares redutores (AR). Tal reação é a base de um teste semiquantitativo que é conhecido como reação de Fehling, que já foi utilizado para determinar níveis de glicose em pessoas com diabetes melito. (NELSON; COX, 2014)¹¹. Este teste também é a base de um dos métodos de quantificação de açúcares em produtos cárneos utilizados neste trabalho.

O Bromo também tem a capacidade de oxidar monossacarídeos, pois os mesmos possuem em sua estrutura um grupo aldeído ou cetona que quando presentes em solução aquosa podem reduzir o Bromo (Br_2), baseando neste mesmo princípio para classificá-los como açúcares redutores. Os dissacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos não possuem grupos aldeído ou cetonas livres em solução aquosa capazes de reduzir o bromo, logo é conferido a eles o nome de açúcares não redutores (ANR) (BRUCE, 2010).

O ácido produzido a partir da redução de uma aldose é conhecido como ácido aldônico e assim como qualquer outro aldeído quando oxidado produzirá o seu ácido carboxílico correspondente. Assim como na reação de Fehling, existem diversos outros reagentes que são utilizados com o objetivo de oxidar aldoses, como por exemplo, o *reagente de Tollens* (Ag^+ em NH_3 aquoso) e o *reagente de Benedict* (Cu^{2+} em citrato de sódio aquoso) (MCMURRY, 2011). A figura 6 mostra as reações ocorridas com tais reagentes:

Figura 6 - Figura 6: Reação com reagente de Fehling e Tollens



Fonte: VOLLHARDT; SCHORE (2013)

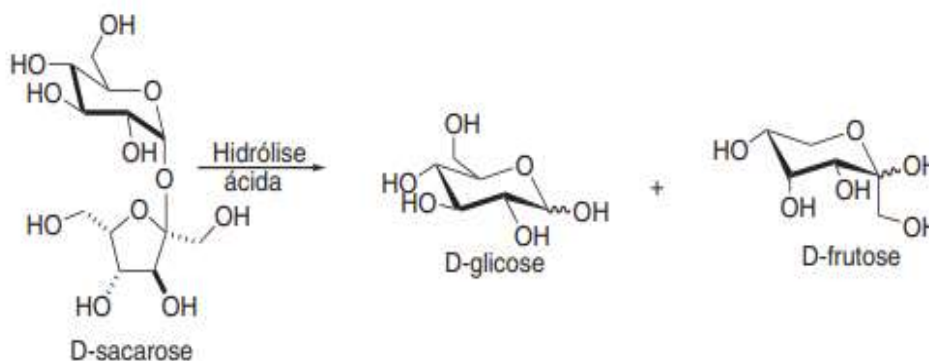
2.1.2. Açúcares não redutores

Quando não há a disponibilidade dos carbonos dos grupos carbonílicos e cetonas livres nos açúcares para serem oxidados, é considerado então que essa molécula não possuirá capacidade redutora, neste caso, são chamados de açúcares não redutores (ANR). A sacarose é um exemplo de açúcar não redutor, pois não possui um átomo de carbono anomérico livre para ser oxidado. Nestes casos, para que haja a determinação quantitativa de açúcares utilizando os métodos citados, é necessário uma hidrólise prévia para tornar os açúcares redutores em não redutores, ressaltando que estes não são os únicos métodos quantitativos disponíveis. Existem outros, como a separação por cromatografia; etc. (DORNERMANN, 2016).

A estrutura de formação da sacarose possui uma molécula de glicose e uma frutose, ambas moléculas possuem carbonos anoméricos que se unirão para formar uma ligação glico-

sídica, assim não haverá um carbono disponível para ser oxidado, o que confere a ela a característica não redutora. Os dissacarídeos como a sacarose, são facilmente hidrolisados por aquecimento por ácidos diluídos (FERREIRA; ROCHA; SILVA, 2009). A figura 7 descreve a hidrólise da sacarose:

Figura 7 - Hidrólise ácida da sacarose



Fonte: FERREIRA; ROCHA; SILVA (2009)

3. MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DE CARBOIDRATOS TOTAIS E AMIDO

Como explicado na seção 1.3, o amido é um carboidrato presente em diversos cereais e vegetais que se encaixa na classificação dos polissacarídeos. O motivo de quantificar o amido separadamente dos carboidratos totais é que órgãos oficiais regulam a sua dosagem em produtos industrializados. Um método adequado depende de diversas variáveis, como uma sensibilidade desejada ao valor do resultado, disponibilidade de recursos, reprodutibilidade satisfatória e, até mesmo, atender determinação metodológica de tais órgãos.

O método titulométrico costuma ter uma vantagem econômica em relação aos demais métodos por, geralmente, demandar baixo custo. As titulações são baseadas em uma reação entre o analito e um reagente padrão de concentração conhecida como titulante (SKOOG et al, 2006). Porém, este método é mais sensível ao erro analítico causado pelo fator humano, pois depende da observação do ponto final da reação entre o titulante e o titulado, erro este que pode ser amenizado por uma titulação potenciométrica, quando possível.

Neste trabalho será utilizado um método “clássico” como o titulométrico e um método em que o resultado é medido instrumentalmente por meio de um espectrofotômetro UV/VIS.

A espectroscopia ultravioleta-visível (UV-VIS) é a observação da absorção da radiação eletromagnética nas regiões do visível (VIS) e do ultravioleta (UV) do espectro. Uma fonte de luz é incidida sob a amostra diluída, um seletor de comprimento de onda limita a região do

espectro para a medida e um detector de radiação converte a energia radiante em um sinal elétrico mensurável. A relação entre a luz incidida e a transmitida é chamada de absorvância, que se refere a luz absorvida pelo analito em determinado comprimento de onda (SKOOG et al, 2006).

Normalmente, utiliza-se o método de verificar a absorção de uma espécie com concentração conhecida e relacionar com a absorção em várias concentrações par montar uma curva analítica. Utilizar um método instrumental para determinar carboidratos, busca trazer mais relevância ao estudo, já que é um método mais caro e aplicado principalmente em controle de parâmetros na indústria.

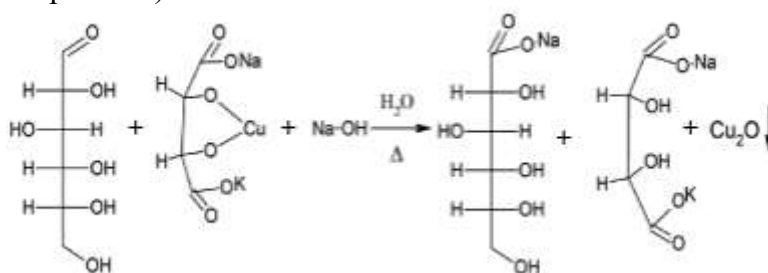
O método espectrométrico também necessita da hidrólise dos açúcares não redutores, utilizando ácido perclórico ou ácido sulfúrico diluído e podendo ser medidos (dentre outros métodos) pela reação com a Antrona (9,10-dihidro-9-oxoantraceno), como descrito por CHERELLI (2018).

A determinação de amido é feito separadamente porque ele é ingrediente adicional de muitos produtos alimentícios e possui determinações específicas de quantidades determinadas por órgãos fiscalizadores, conforme descrito na introdução.

3.1. O método de Lane-Eynon (reação de fehling)

Os métodos titulométricos são baseados na relação estequiométrica entre o titulante e o titulado, na qual a concentração do analito é determinada pelo equivalente da massa. O princípio aplicado no método de Lane Eynon é a redução de volume conhecido de um reagente preparado com cobre em meio alcalino (reagente de Fehling) à óxido cuproso (Cu_2O) por meio de titulação. O Amido, sendo um polissacarídeo, não possui ação redutora, portanto, é necessária uma hidrólise da ligação glicosídica para converter todo o amido em glicose (um açúcar redutor) e possibilitar a oxidação. O analito é o titulante e o ponto final é indicado pelo azul de metileno, que é reduzido a sua forma Leuco (clara) quando o titulante estiver em pequeno excesso. Porém, o ponto final é o vermelho-tijolo devido ao precipitado de Cu_2O (DORNER-MANN, 2016); conforme descrito na figura 8:

Figura 8 - Reação da glicose como o reagente de Fehling (hidróxido de sódio, sulfato de cobre e tartarato neutro de potássio)

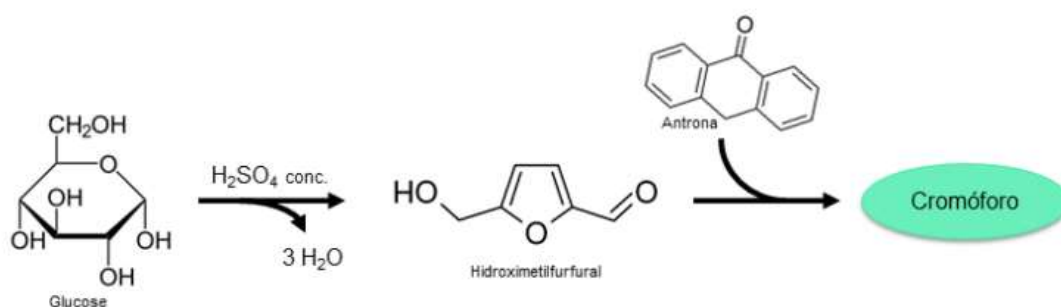


Fonte: DORNERMANN (2016)

3.2. O método de carboidratos solúveis por espectrometria (reação com antrona)

A antrona (9,10-dihidro-9-oxoantraceno) é uma cetona aromática tricíclica. Uma solução preparada com esse reagente em meio ácido em contato com a glicose confere a solução uma coloração esverdeada em que o tom varia de acordo com a concentração de glicose no analito e azulada quando reage com dissacarídeos, trissacarídeos ou polissacarídeos. O método se baseia na ação hidrolítica e desidratante do ácido sulfúrico concentrado sobre os carboidratos. Quando a reação é levada a efeito com carboidratos com ligações glicosídicas, estas são hidrolisadas e os açúcares simples desidratados para furfural ou hidroximetilfurfural. Essas substâncias se condensam com a antrona conferindo a solução a faixa de cor citada acima. O espectro de absorção é medido instrumentalmente e a concentração do analito é determinada por meio de uma curva padrão (SILVA et al, 2013). A figura 9 mostra a reação da glicose com a antrona em presença de ácido sulfúrico concentrado:

Figura 9 - Reação da glicose com a antrona em meio ácido



Fonte: RODRIGUES (2017)

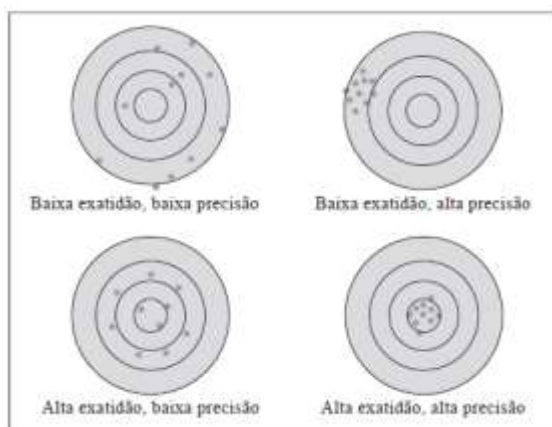
4. FUNDAMENTOS DE ANÁLISES ESTATÍSTICAS PARA VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA

Os resultados analíticos estão sujeitos a variabilidade que podem ocorrer, dentre outros fatores, devido à incerteza, erros sistemáticos, erros aleatórios e/ou sensibilidade do método analítico. De forma direta, esta variabilidade pode ocorrer devido, por exemplo, a uma padronização de solução mal feita, uma vidraria ou equipamento mal calibrado ou erros e incertezas aleatórios, dentro do espectro de que os mesmos possam ter sido ocasionados pelo fator humano ou não. É impossível emitir um resultado que esteja totalmente livre de erros ou incertezas, porém existem tratamentos que podem minimizá-los e melhorar a exatidão dentro de uma proposta ou referência aceitável, com exceção dos erros e incertezas aleatórios. Um número maior de dados facilita a compreensão do quanto tais erros estão afetando o resultado obtido, por tanto, é comum que a maioria dos ensaios sejam executados com **replicatas** entre duas e cinco análises de uma mesma amostra (SKOOG et al, 2006).

4.1. Precisão e exatidão

Quando se possui um resultado esperado de quantificação de um determinado analito, podemos descrever o quão preciso e exato e o resultado analítico foi. A **precisão** se refere ao quanto determinados valores de dados se aproximam um do outro quando tais dados foram obtidos de uma mesma forma e é descrito como reprodutibilidade das medidas. Já a **exatidão** se refere ao quanto o resultado analítico obtido se aproximou do valor esperado, considerado o verdadeiro, ou o valor aceito. A exatidão tem relação direta com erro analítico. A figura a 10, um “tiro ao alvo”, ilustra a descrição do que é a precisão e a exatidão (SKOOG et al, 2006):

Figura 10 - Alvo de ilustração de precisão e exatidão



Fonte: (SKOOG et al, 2006)

O centro do alvo corresponde genericamente ao valor real ou aceito e marcas correspondem ao quanto os resultados se aproximaram do valor real ou aceito e entre si. Os valores da imagem no centro a direita correspondem uma precisão alta entre os resultados mas com distante de um valor médio exato. Com isso, já se poderia prever alguns fatores, pois erros humanos raramente se repetem de forma tão concisa quando se fala de execução de métodos analíticos.

Para se obter a validação de um método por meio dos resultados e determinar o quão exato e preciso os resultados foram, é necessário calcular uma série de dados como a média aritmética, coeficiente de variação, erro relativo e absoluto, que serão descritos na seção de avaliação dos resultados.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo geral

Este trabalho tem como objetivo avaliar a eficiência de dois métodos junto com análises estatísticas, a partir de dados gerados por diferentes analistas em duas amostras de produtos cárneos processados.

5.2. Objetivos específicos

Determinar analiticamente a concentração de Amido e Carboidratos totais em duas amostras de diferentes produtos;

Realizar análise estatística para comparar a eficiência de dois métodos e analistas;

Mensurar erros analíticos por meio de ferramentas estatísticas.

6. METODOLOGIA

Para realização do estudo foram selecionadas duas amostras, uma Mortadela, Teor de Carboidratos de 6,75% (Amostra A) e o Steak (empanado de frango), teor de carboidratos de 19,0% (Amostra B), conforme expresso no rótulo dos produtos. As amostras foram moídas, homogeneizadas e refrigeradas para manter sua conservação;

Cinco analistas em diferentes datas realizaram os testes em triplicata com as amostras A e B pelos testes de Lane Eynon (Titulometria) e Antrona (espectrometria). Os recipientes das amostras foram identificados apenas com as letras para que os analistas não conhecessem o teor do analito.

Segundo SKOOG et. al. (2006) recomenda-se que em um estudo de variabilidade analítica, sejam replicados entre três e cinco testes de uma mesma amostra em uma mesma batelada de testes, já que não seria possível verificar variabilidade com um único resultado. Neste trabalho os analistas analisaram cada amostra em triplicata.

O laboratório ao qual o teste foi realizado possui 21 analistas divididos em três turnos de trabalho. Para a realização do estudo, foram escolhidos os analistas com maior tempo de experiência e que atingiram melhores resultados de proficiência em estudos analíticos anteriores, portanto, o perfil analítico dos mesmos podem ter impactados positivamente em relação a variabilidade dos resultados.

Além das amostras, cada analista realizou juntamente com a batelada a análise de um padrão analítico, o amido solúvel da marca “Merck”, com teor de pureza especificado entre 93,5% e 94,5% conforme certificado emitido pelo fornecedor para identificar a eficiência metodológica em relação ao amido, pois não é expresso no rótulo em separado. Tal procedimento foi essencial para avaliar a eficácia do resultado, pois não se pôde definir o teor médio de amido nas amostras como um valor conhecido, pois elas são provenientes do processo produtivo que nem sempre atinge total uniformidade.

6.1. Determinação de Carboidratos solúveis totais e Amido por espectrometria (reação com antrona) (Referência da metodologia: Manual de Métodos oficiais do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento ed. 2; Parte I)

Materiais e Reagentes

- Agitador vórtex;
- Balança analítica com resolução mínima de 0,0001 g;
- Banho-maria;
- Balão volumétrico de 500 mL;
- Centrífuga capaz de gerar uma RCF de 1000×g ou superior;
- Cubeta de quartzo;
- Espectrofotômetro UV/Vis;
- Estufa;
- Funil;
- Micropipetas de 50 a 2000 µL;
- Pipetas volumétricas de 2 e 10 ml;
- Tubo de centrífuga de fundo cônico 25 ou 50 mL;
- Tubos de ensaio;

- Solução de ácido sulfúrico (H₂SO₄) 76:24 (v/v):
 - Solução de álcool etílico (C₂H₅OH) 80% (v/v);
 - Éter etílico p.a;
 - Solução de Antrona (C₁₄H₁₀O):

6.1.1. Procedimento

(a) Preparo da curva de calibração:

Pipetar alíquotas de 250, 500, 750, 1000, 1250, 1500 e 2000 µL da solução de Dglicose a 0,01% para tubo de ensaio e adicionar água Tipo I de modo que todos eles venham a conter um volume final de 2 mL, obtendo-se assim as soluções padrões. Seguir conforme o item k do procedimento. Zerar o equipamento com o branco de reagentes utilizando 2 mL de água Tipo I. Deve-se utilizar uma curva de calibração recém preparada a cada nova batelada de amostras;

(b) Pesar 0,5g±0,05 de frações separadas para amido e carboidrato diretamente para tubo de centrífuga. A amostra deve estar perfeitamente homogeneizada.

(c) Para amido e carboidratos totais: Lavar a amostra com 5 mL de éter etílico, agitar em vórtex e centrifugar por 5 minutos, retendo o resíduo centrifugado. Repetir este procedimento por mais duas vezes;

(d) Para amido: lavar o resíduo centrifugado da etapa anterior com 5 mL de solução a 80% (v/v) de álcool etílico a quente (entre 60 a 70 °C), agitar em vórtex e centrifugar por 5 minutos, retendo o resíduo centrifugado. Repetir este procedimento duas vezes mais;

(e) Secar o resíduo centrifugado em estufa a 105 °C ± 2 °C por 1 hora;

(f) Adicionar 10 mL de solução de ácido sulfúrico 0,25 mol L⁻¹ e colocar o tubo em banho-maria, tendo o cuidado de manter o nível da solução contida no tubo abaixo do nível de água do banho; Carnes e produtos cárneos 7

(g) Aquecer por 1 hora, mantendo o nível da água do banho acima do nível da solução no tubo, agitando o conteúdo do tubo ocasionalmente;

(h) Decorrido o tempo estabelecido, transferir quantitativamente o conteúdo do tubo para balão volumétrico de 500 mL e completar o volume com água;

(i) Homogeneizar e deixar decantar;

(j) Pipetar 2 mL do sobrenadante para tubo de ensaio previamente lavado com álcool etílico (a presença de contaminantes ou poeira no tubo pode produzir resultados errôneos);

(k) Adicionar 10 mL de solução de antrona ao tubo referente à amostra e tubos da curva padrão, levando-os ao banho-maria com água em ebulição por 10 minutos;

(l) Retirar do banho e deixar esfriar;

(m) Zerar o equipamento com o branco de reagentes e proceder à leitura da absorvância em comprimento de onda de 620 nm;

(n) Construir a curva de calibração lançando no eixo das ordenadas os valores de absorvância e no eixo das abscissas as concentrações finais de glicose em 50, 75, 100, 125, 150 e 200 µg de glicose/2 mL.

Obs.: O que difere o procedimento para determinação de amido é somente a parte de lavagem do resíduo com álcool a 80%, etapa esta que tem o objetivo de eliminar a fração solúvel do amido, conforme descrito na revisão.

6.1.2. Determinação de carboidratos totais e amido por Lane Eynon (Reação de Fehling)

6.1.3. Materiais e Reagentes

- Espátula;
- Funil;
- Papel de filtro;
- Balança Analítica;
- Pipetas graduadas;
- Balão volumétrico;
- Erlen Meyer;
- Papel indicador de pH;
- Proveta;
- Bastão de Vidro
- Bureta graduada;
- Chapa aquecedora;
- Autoclave;
- Acetona P.A;
- Ferrocianeto de potássio 15%;
- Acetato de zinco 30%;
- Solução de Fehling A;
- Solução de Fehling B.
- Azul de Metileno 1%.

6.1.4. Procedimento amido

1. Pesar $15g \pm 0,1$ de amostra homogeneizada em Erlenmeyer de 250 mL. Anotar o peso da amostra.

2. Adicionar 50mL de água destilada e dissolver a amostra.

3. Adicionar 10mL de ácido clorídrico concentrado (na capela).

4. Autoclavar a $120^{\circ} C$ durante 30 min.

5. Esfriar e neutralizar com hidróxido de sódio 40%, usando papel indicador de pH.

6. Transferir para balão volumétrico de 250mL (não completar o volume).

7. Adicionar 5mL de ferrocianeto de potássio a 15% e 5mL de acetato de zinco a 30%.

Agitar bem e completar o volume.

8. Aguardar a floculação e sedimentação do material. Filtrar, identificando o frasco que recebe o filtrado.

9. Colocar o filtrado na bureta.

10. Pipetar volumetricamente 10mL de Fehling A e 10mL de Fehling B para o balão de titulação Fehling. Adicionar algumas pérolas de ebulição.

12. Adicionar 40mL de água destilada. Aquecer até ebulição e gotejar a solução da amostra até que inicie o descoramento. Adicionar 1 gota de azul de metileno a 1% e completar a titulação até descoramento do indicador

13. Mantendo a ebulição, adicionar 1 gota de azul de metileno a 1% e continuar a titulação até descoloração do indicador. Anotar o volume gasto.

***Obs:** A solução deve permanecer em ebulição durante a titulação para evitar que o Cu_2O formado durante a titulação oxide e volte a coloração azul.

A titulação não deve ultrapassar três minutos para evitar que a glicose degrade com a temperatura gerando um resultado falso.

6.1.5. Procedimento carboidratos totais

1. Pesar $25g \pm 0,1$ de amostra homogeneizada em Erlenmeyer de 250 mL. Anotar o peso da amostra.

2. Adicionar 50mL de água destilada e homogenizar a amostra.

3. Adicionar 2mL de ácido clorídrico concentrado (na capela) e levar ao Banho Maria $60^{\circ}C$ por 60 minutos.

4. Esfriar e neutralizar com hidróxido de sódio 50% usando papel indicador de pH.

5. Seguir os passos de 6 ao 13 do procedimento de amido.

7. RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.1. Resultados de amido e carboidratos solúveis totais pelo método espectrométrico

$$\text{Teor de amido, em g/100 g} = \frac{C \cdot 500 \cdot 0,90}{V \cdot m \cdot 10.000}$$

$$\text{Teor de Carboidratos, em g/100 g} = \frac{C \cdot 500}{V \cdot m \cdot 10.000}$$

onde:

C = Concentração na alíquota, obtida da curva padrão, em μg de glicose/2 mL;

m = massa da amostra, em g;

V = volume da alíquota tomada do balão de 500 mL, em mL;

0,9 = fator de conversão glicose/amido;

500 = fator de diluição devido ao balão de 500 mL;

10.000 = fator de conversão $\mu\text{g g}^{-1}$ para g/100 g.

7.2. Construção da curva analítica

Para a obtenção da concentração na alíquota (C) foram utilizadas as absorvâncias da curva analítica da solução de glicose 0,01% obtida no espectrofotômetro UV/VIS da marca SHIMADZU e tabeladas em excel para obtenção da equação da reta.

A curva obtida pelo Analista 1 é demonstrada na tabela 2:

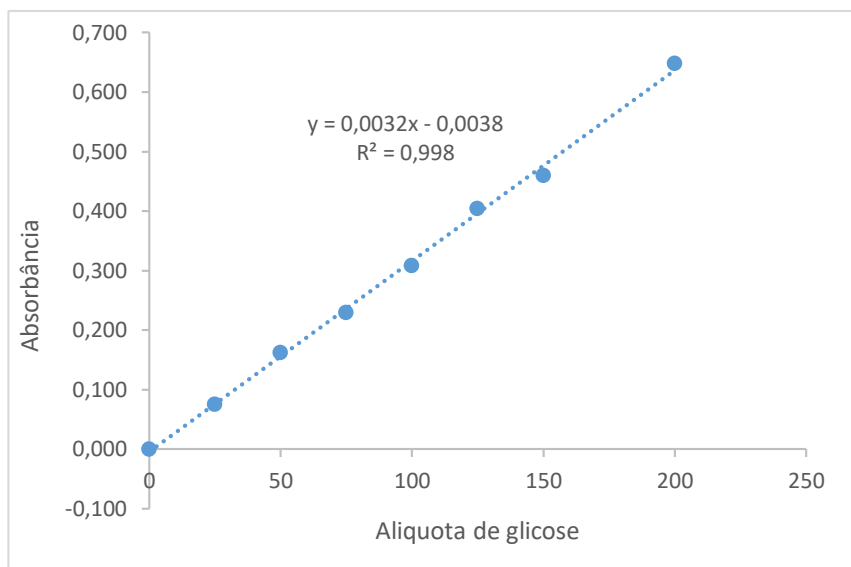
Tabela 2 - Absorvâncias para a solução de glicose (Analista 1)

PONTO	Concentração do Padrão (μg de glicose/2mL)	Volume da Solução de glicose 0,01% (μL)	Absorvância
Branco da reação	0	0	0,000
PONTO 1	25	250	0,076
PONTO 2	50	500	0,163
PONTO 3	75	750	0,230
PONTO 4	100	1000	0,309
PONTO 5	125	1250	0,405
PONTO 6	150	1500	0,460
PONTO 7	200	2000	0,648

Fonte: Autor

O gráfico 1 mostra a equação obtida para determinação da concentração na alíquota de glicose:

Gráfico 1: Absorbância x concentração de glicose



Fonte: Autor

Os valores de absorbância obtidas nas amostras A e B substituem o “y” na equação da reta para obter a concentração referente aos 2 mL coletados para análise.

As tabelas 3 e 4 mostram os resultados de concentração de Amido e carboidratos pelo Analista 1:

Tabela 3 - Concentração de amido nas amostras obtida pelo analista 1

Amostra	Massa Amostra	Absorbância	Amido na Aliquota(µg/2mL)	Amido g/100g
A1	0,5034	0,245	77,75	3,48
A2	0,5036	0,251	79,63	3,56
A3	0,4944	0,233	74,00	3,37
B1	0,5155	0,913	286,50	12,50
B2	0,5003	0,884	277,44	12,48
B3	0,4987	0,889	279,00	12,59
AMIDO P.A	0,1016	1,276	425,41	94,21

Fonte: Autor

Tabela 4 - Concentração de carboidratos nas amostras obtida pelo analista 1

Amostra	Massa Amostra	Absorbância	Amido na Aliquota (µg/2mL)	Carboidratos g/100g
A1	0,4933	0,422	133,06	6,74
A2	0,4568	0,390	123,06	6,74
A3	0,5032	0,429	135,25	6,72
B1	0,4928	1,192	373,69	18,96
B2	0,4833	1,170	366,81	18,97
B3	0,4589	1,108	347,44	18,93

Fonte: Autor

7.3. Resultados de Amido e Carboidratos solúveis totais pelo método titulométrico de Lane Eynon

O Cálculo do título da solução de cobre (Fehling) é dado por:

$$FC = \frac{\text{mL gastos de glicose} \times 0,5}{100}$$

Foi usada a mesma solução por todos os analistas.

Para a padronização foi utilizada uma solução de glicose preparada com 0,5004g de glicose seca em estufa por uma hora e diluída em um balão volumétrico de 100 mL, com média de volume gasto na titulação do padrão de 9,90 mL

$$FC = \frac{9,90 \times 0,5004}{100}$$

$$FC = 0,0495$$

O percentual de Carboidratos Totais é dado por:

$$\text{Carboidratos (\%)} = \frac{[FC/2 \times 250 \times 100]}{V \times P}$$

O percentual de Amido é dado por:

$$\text{Amido (\%)} = \frac{[FC/2 \times 250 \times 100 - (\% \text{ de Carboidratos totais}) \times 0,90]}{V \times P}$$

Onde:

FC = título da solução de Fehling;

V = volume da amostra gasto na titulação, em mL;

P = peso da amostra em g

0,90 = fator de transformação de glicose em amido.

As tabelas 5 e 6 mostram as concentrações de amido e carboidratos obtidos.

Tabela 5 - Resultados para carboidratos obtidos pelo Analista 1

Amostra	Massa (g)	Volume gasto (mL)	Volume do balão (mL)	Fator do Fehling	Carboidratos (g/100g)
A1	25,0045	7,40	250	0,0495	6,69
A2	25,0303	7,50	250	0,0495	6,59
A3	25,0063	7,40	250	0,0495	6,69
B1	24,9612	2,60	250	0,0495	19,07
B2	25,0442	2,70	250	0,0495	18,30
B3	25,0984	2,70	250	0,0495	18,26

Fonte: Autor

Tabela 6 - Percentual de Amido obtido pelo Analista 1

Amostra	massa (g)	Volume gasto (mL)	Volume do balão (mL)	Fator de Conversão Hexoses-Amido	Fator (Fehling)	(%) Amido
A1	15,0773	21,60	250	0,90	0,0495	3,42
A2	15,0154	22,20	250	0,90	0,0495	3,34
A3	15,0040	22,00	250	0,90	0,0495	3,37
B1	15,0925	5,90	250	0,90	0,0495	12,51
B2	15,0294	6,10	250	0,90	0,0495	12,15
B3	15,0781	6,10	250	0,90	0,0495	12,11
Amido P.A	1,0268	11,85	250	0,90	0,0495	91,53

Fonte: Autor

7.4. Resultado geral

As tabelas 7, 8, 9 e 10 mostram os resultados gerais obtidos pelos cinco analistas que executaram os ensaios:

Tabela 7 - Média geral método Lane Eynon (amido)

Analista	Amostra A	Amostra B	Amido P. A	Recuperação AMIDO
1	3,38	12,26	91,53	97,38
2	3,38	12,47	93,26	99,21
3	3,36	12,49	92,91	98,84
4	3,37	12,43	92,54	98,45
5	3,46	12,47	93,15	99,10
MÉDIA GERAL	<u>3,39</u>	<u>12,42</u>	<u>92,68</u>	<u>98,60</u>

Fonte: Autor

Tabela 8 - Média geral método Lane Eynon (carboidratos)

Analista	Amostra A	Amostra B
1	6,66	18,54
2	6,73	18,81
3	6,57	18,77
4	6,69	18,87
5	6,65	18,94
MÉDIA GERAL	<u>6,66</u>	<u>18,79</u>

Fonte: Autor

Tabela 9 - Média geral espectrometria (amido)

Analista	Amostra A	Amostra B	Amido P. A	Recuperação AMIDO
1	3,47	12,52	94,21	100,22
2	3,50	12,47	93,15	99,10
3	3,52	12,48	93,96	99,96
4	3,48	12,53	93,43	99,39
5	3,48	12,53	93,61	99,58
MÉDIA GERAL	<u>3,49</u>	<u>12,51</u>	<u>93,67</u>	<u>99,65</u>

Fonte: Autor

Tabela 10 - Resultado geral espectrometria (carboidratos)

Analista	Amostra A	Amostra B
1	6,77	18,92
2	6,71	18,95
3	6,76	18,87
4	6,71	18,93
5	6,75	18,97
MÉDIA GERAL	<u>6,74</u>	<u>18,93</u>

Fonte: Autor

7.5. Avaliação dos resultados

Todo ensaio laboratorial que envolve um equipamento ou a execução de um método por parte de um indivíduo humano está sujeito a erros que muitas vezes podem ser mensurados. Portanto, além de verificar a eficiência do método, também é necessário fazer um estudo dos erros aleatórios que possam ter ocorrido no processo de obtenção do resultado da análise.

Três termos são amplamente empregados para descrever a precisão de um conjunto de dados de réplicas:

desvio-padrão, variância e o coeficiente de variação. Os três são uma função de quanto um resultado individual “ x_i ” difere da média, o que é denominado **desvio em relação à média.**

O desvio padrão populacional é dado por:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \mu)^2}{N}}$$

Onde:

μ = Média do conjunto de dados;

x_i = valor obtido em análise,

N = Número de dados que compõem e população de dados.

O coeficiente de variação (CV) corresponde ao desvio padrão relativo em termos percentuais. É dado pela seguinte fórmula:

$$CV = \frac{s}{\bar{x}} \times 100\%$$

Onde:

s = desvio padrão;

\bar{x} = Média do conjunto de dados.

Como o método foi o mesmo para ambos os analitos a serem detectados, o estudo estatístico foi feito utilizando somente os resultados de **amido**.

A tabela 11 mostra as variações obtidas com o ensaio executado pelo método de Lane Eynon:

Tabela 11 - Desvio Padrão e coeficiente de variação nos resultados por titulometria

ANALISTA	Amostra	Média	Desvio Padrão	CV
1	A	3,38	0,04	1,17
	B	12,26	0,22	1,79
2	A	3,38	0,10	2,84
	B	12,47	0,12	0,99
3	A	3,36	0,03	0,97
	B	12,49	0,16	1,25
4	A	3,37	0,03	0,85
	B	12,61	0,15	1,19
5	A	3,46	0,09	2,63
	B	12,47	0,15	1,20

Fonte: Autor

A tabela 12 apresenta os valores das variações calculadas para os dados obtidos pelo método espectrométrico;

Tabela 12 - Desvio Padrão e coeficiente de variação nos resultados por espectrometria

ANALISTA	Amostra	Média	Desvio Padrão	CV
1	A	3,47	0,10	2,75
	B	12,52	0,06	0,46
2	A	3,50	0,08	2,18
	B	12,47	0,01	0,10
3	A	3,52	0,02	0,58
	B	12,48	0,07	0,52
4	A	3,48	0,04	1,15
	B	12,53	0,08	0,65
5	A	3,48	0,07	2,01
	B	12,53	0,07	0,57

Fonte: Autor

A primeira análise que foi feita para mensurar possíveis desvios nos resultados, foi o cálculo do “Erro Relativo (E_r)”. Tal dado se refere ao percentual na qual um resultado se distanciou do valor verdadeiro. É dado por:

$$E_r = \frac{x_i - x_v}{x_v} \times 100\%$$

Onde:

x_i = Valor obtido em análise;

x_v = Valor verdadeiro.

O valor verdadeiro para as amostras A e B é desconhecido, pois são provenientes do processo produtivo, portanto, foi atribuído a concentração amido buscada pelo fabricante no processo. O padrão analítico de amido utilizado é certificado pelo fabricante, portanto, o valor médio especificado no rótulo é considerado o valor verdadeiro. Então:

$$x_v(A) = 3,50\%$$

$$x_v(B) = 12,50\%$$

$$x_v(\text{Amido P.A}) = 94\%$$

As tabelas 13 e 13 contém os valores de erro relativo obtidos para o conjunto de dados analisados:

Tabela 13 - Erro relativo no método de Lane-Eynon

Analista	Er (A)	Er (B)	Er (Amido P.A)
1	-3,43	-1,92	-2,63
2	-3,43	-0,24	-0,79
3	-4,00	-0,08	-1,16
4	-3,71	-0,56	-1,55
5	-1,14	-0,24	-0,90
Média	<u>-3,14</u>	<u>-0,61</u>	<u>-1,41</u>

Fonte: Autor

Tabela 14 - Erro relativo no método espectrométrico

Analista	Er (A)	Er (B)	Er (Amido P.A)
1	-0,86	0,16	0,22
2	0,00	-0,24	-0,90
3	0,57	-0,16	-0,04
4	-0,57	0,24	-0,61
5	-0,57	0,24	-0,41
Média	<u>-0,29</u>	<u>0,05</u>	<u>-0,35</u>

Fonte: Autor

Perceptivelmente, a média do erro relativo foi maior tanto nas amostras quanto no padrão analítico para os ensaios realizados pelo método titulométrico, algo que já era esperado, pois a observação do ponto de viragem em uma titulação onde se observa a alteração de cor, muitas vezes ocorrem percepções diferentes por parte do analista, sendo que está mais propenso ao erro causado pelo fator humano. Métodos analíticos instrumentais, no geral, apresentam menos propensão ao erro relativo, sendo que na maioria das vezes, os erros são percebidos quando ocorre uma discrepância muito grande no grupo de dados.

Como estratégia de validação métodos analíticos é comum analisar um padrão analítico de valor conhecido juntamente com cada batelada de amostras. Neste trabalho, utilizamos o **Amido Solúvel P.A** da marca “Merck” com 94% de pureza conforme certificado emitido pelo fabricante. Foi calculada a **Recuperação** que consiste no valor recuperado do analito em um ensaio comparado ao valor real, e consiste no percentual de quão próximo o dado chegou do valor real, sendo também assim um reflexo da exatidão do resultado. É dado por:

$$\text{Rec} = \frac{x_i}{x_v} \times 100;$$

x_v

Sendo:

$$x_v (\text{Amido P.A}) = 94\%$$

A tabela 15 mostra os valores da recuperação do amido P.A em ambos os métodos:

Tabela 15 - Recuperação do amido

Analista	Rec. Amido P.A (Lane Eynon)	Rec. Amido P.A (espectrometria)
1	97,38	99,10
2	99,21	100,05
3	98,84	99,96
4	98,45	99,39
5	99,10	99,58
Média	<u>98,60</u>	<u>99,62</u>
Desvio padrão (S_{Rec})	<u>0,66</u>	<u>0,35</u>

Fonte: Autor

Mais uma vez observa-se um valor mais próximo do real pela metodologia espectrométrica. Sendo que, se tratando de um padrão analítico com percentual certificado, também é possível atrelar os dados obtidos a eficiência do método. Ou seja, o método espectrométrico foi, de fato, mais eficiente.

O manual da Association of Official Analytical Chemists (AOAC) sugere uma tabela de valores aceitáveis para a recuperação de acordo com o teor do analito. Esses valores são estimados considerando-se que análises de elementos majoritários costumam apresentar erros sistemáticos relativos muito inferiores àqueles obtidos para analitos em concentrações muito pequenas. A tabela 16 é mostrada a seguir:

Tabela 16 - Recuperação do analito em função da concentração

Concentração do analito (%)	Intervalo de Recuperação Aceito (%)
> 10	98-102
> 1	97-103
> 0,1	95-105
> 0,01	90-107
> 0,001 - \geq 0,00001	80-110
> 0,000001	60-115
> 0,0000001	40-120

Fonte: Association of Official Analytical Chemists (AOAC)

Portanto, o Amido certificado de concentração de 94% em ambos métodos atendeu a faixa de intervalo aceito para recuperação (98% -102%).

8. CONCLUSÃO

O método analítico espectrométrico apresentou um menor desvio e uma proximidade maior tanto para o padrão analítico analisado quanto para as amostras A e B. Também apresentou um resultado mais próximo aos valores contidos nas tabelas nutricionais dos produtos (Amostra A = 6,74 g/100g e Amostra B = 18,93 g/100g). É importante também notar que os valores obtidos para amido e carboidratos totais são bem próximos em ambas amostras, ao qual era esperado por serem produtos ao qual predominam o sabor salgado, então demais açúcares, como a sacarose, são ingredientes com nenhum ou baixos níveis. As figuras 11 e 12 mostram os ingredientes e a tabela nutricional dos produtos A e B respectivamente:

Figura 11 - Tabela Nutricional da amostra do produto A

Nossos Ingredientes		Informações Nutricionais	
<p>Carne mecanicamente separada de ave (frango e/ou peru), carne suína, gordura suína, carne de frango, amido, sal, proteína de soja, açúcar, alho, coentro, noz-moscada, canela, espessante: carragena, aromatizantes: aroma natural de fumaça e aromas naturais (contém aromas naturais de óleo essencial de salsa, canela, cebola, noz moscada, alho, orégano, cravo, louro, extrato de levedura, óleo resina de pimenta, pimenta malaguete, pimenta branca e pimenta páprica), estabilizante: tripolifosfato de sódio, realçadores de sabor: glutamato monossódico, antioxidante: isoascorbato de sódio, conservador: nitrito de sódio, corante: carmim de cochonilha. Contém Glúten.</p>		Porção 40g (3 1/2 Fatias)	NVD
Valor Energético	124 kcal = 522kJ	Quantidade	
Carboidratos	2,7 g		
Proteínas	5,6 g		
Gorduras Totais	10 g		
Gorduras Saturadas	3,4 g		
Gorduras Trans	0 g		
Fibra Alimentar	0 g		
Sódio	528 mg		

Fonte: Perdigão

Figura 12 - Tabela Nutricional da amostra do produto B



Fonte: Sadia

Apesar da menor eficácia nos resultados, o método titulométrico também apresentou valores muito próximos dos reais, demonstrando assim, sua aplicabilidade em processos que demandam uma maior agilidade nos resultados e que disponham de menor custo para investimentos em equipamentos para análises instrumentais.

O ambiente industrial, principalmente quando se produz em grandes escalas, necessita que haja agilidade na determinação e ajuste de seus processos. Normalmente, grandes quantidades de produtos ficam parados esperando pelos resultados analíticos para a sua liberação para o mercado. Neste contexto, um processo laboratorial não depende somente da eficácia dos seus

resultados, mas também da agilidade. Portanto, um método que seja possível de ser executado em uma fração menor de tempo se torna muito interessante para se ajustar processos produtivos.

Aplicando os resultados deste trabalho na situação real do ambiente produtivo, poderia se recomendar a utilização do método titulométrico para ajuste do processo e a análise pelo método espectrométrico para a emissão de laudos, que são exigidos pelos órgãos fiscalizadores, para os lotes de produtos já consolidados. Isso daria maior agilidade no processo e tempo hábil para executar o método que demanda maior tempo.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

NOGUEIRA, Marcela De Oliveira; DAMASCENO, Mauro Lúcio Valle. **Importância do Sistema de Gestão da Qualidade Para Indústria de Alimentos**. Cad. Ciênc. Agrá., v.8 n.3 p. 84-93, 2016.

ABPA. **Em 2021, Brasil registou recorde de produção de proteína animal**. Canal Rural, 2022. Acessado em: <https://www.canalrural.com.br/noticias/pecuaria/em-2021-brasil-registrou-recorde-de-producao-de-proteina-animal/>. Acesso em 22.03.23 às 15:44.

DUTRA, Wilson; SILVA; Argelia Maria Araujo Dias. **Processamento de Carnes e Derivados**. Produção Alimentícia. Rede e-Tec Brasil, 2013.

https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/defesa-agropecuaria/copy_of_suasa/regulamentos-tecnicos-de-identidade-e-qualidade-de-produtos-de-origem-animal-1/rtiq-carneos-e-seus-derivados-1. Acesso em 22.03.23 às 18:26.

SEYFARTH, Anelena Soccá. **Manual do Profissional. Os Alimentos: Calorias, Macronutrientes e Micronutrientes**. Sociedade Brasileira de Diabetes – SDB, Cap.1 2006/2007.

BAPTISTA, Débora P. et al. **Estudo Da Adição De Amido Modificado Nas Características Tecnológicas, Físico-Químicas E Sensoriais De Produto Carne Emulsionado Embutido**. Campinas, SP, 2008.

PEDROSO, Ricardo Alexandre; DEMIATE, Ivo Mottin. **Avaliação da influência de amido e carragena nas características físico-químicas e sensoriais de presunto cozido de peru**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, p. 24-31, Campinas, SP, 2016.

ABREU, Liliana Veloso. **Amido Como Espessante Alimentar E Consequências Para A Saúde Oral**. Universidade do Porto. Porto, Portugal, 2013.

McMURRY, J., **Química Orgânica** vol. 1 e vol. 2. Editora CENGAGE Learning. Tradução da 7ª Edição Norte Americana. Cap. 25, p. 908-938. São Paulo, SP, 2013.

FRANCISCO, Wilmo Júnior. **Carboidratos: Estrutura, Propriedades e Funções**. Conceitos Científicos em destaque, Química Nova nova na escola (Qnesc), p. 8-13, Ed. 29, 2008.

NELSON, David L.; COX, Michael M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 6 Porto Alegre: Artmed, 2014, 1278 p.

BRUICE, Paula Yurkanis. **Química orgânica**. 4.ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2010. v.2. 641 p.

VOLLHARDT, K. P.; SCHORE, N. E. **Química Orgânica - Estrutura e Função**. 6ª Ed., 2013, pág 1152-1146.

SANTOS, Lucas Makoto Tanaka. **A sacarose é o constituinte principal do açúcar de mesa, que está presente em nosso cotidiano em diversos alimentos e bebidas**. Site Todo Estudo, 2016. Acessado em <https://www.todoestudo.com.br/quimica/sacarose>. Acesso em 22.03.2023 às 21:32.

PURGATTO, Eduardo; TORRES, Elizabeth. **Carboidratos – Amido e Açúcares**. Aula 5. Disciplinas online USP, 2016. Acessado em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4131902/mod_resource/content/1/Carboidratos-amido%20aula.pdf. Acesso em 23.04.23 às 12:34.

DONERMANN, Guilherme Moraes. **Comparação de Métodos para Determinação de Açúcares Redutores e Não-redutores**. UFRS. Porto Alegre, RS, 2016.

SKOOG, Douglas A.; WEST, Donald M.; HOLLER, F. James. **Fundamentos de química analítica**. 8 São Paulo: Cengage Learning , 2009, 999 p.

RODRIGUES, João. **Antrona na análise quantitativa de carboidratos**. Site Fiências, 2017. Acessados em: <https://www.fcencias.com/2017/06/15/antrona-na-analise-quantitativa-carbohidratos-laboratorio-online/>. Acesso em 01.05.2023 às 11:33.

CHERELLI, Sabrina Galetti. **Quantificação Do Amido Na Madeira De Seringueira [*Hevea brasiliensis* (Willd. ex Adr. de Juss.) Muell-Arg.]**. UNESP. Botucatu, São Paulo, 2018.

SILVA, Roberto do Nascimento et. al. **Comparação De Métodos Para A Determinação De Açúcares Redutores E Totais Em Mel.** Ciência e Tecnologia de Alimentos. p. 337-341. Campinas, SP, 2003.

Perdigão. **Mortadela ouro fatiada.** Acessado em https://www.perdigao.com.br/produ-tos/frios/mortadela-ouro/mortadela-ouro-fatiada/?gclid=EAIaIQobChMIupir-wsST_wIVKH5MCh3GdQ_sEAAYASAAEgK5EvD_BwE&gclsrc=aw.ds. Acesso em 02/05/2023.

Sadia. **Steak de frango 100g.** Acessado em: <https://www.sadia.com.br/produtos/lanches/em-panados/steak-de-frango-100g/>. Acesso em 02/05/2023.