

**MARINA MARIA BARBOSA DE OLIVEIRA**

**APLICAÇÃO DE ANÁLISE ELEMENTAR PARA ESTIMATIVA  
DE COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE DIETAS**

Recife

2009

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**MARINA MARIA BARBOSA DE OLIVEIRA**

**APLICAÇÃO DE ANÁLISE ELEMENTAR PARA ESTIMATIVA  
DE COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE DIETAS**

Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-graduação em Nutrição do Centro  
de Ciências da Saúde da Universidade  
Federal de Pernambuco para obtenção  
do título de Mestre em Nutrição

Orientador

Prof. Dr. José Almiro da Paixão

Recife

2009

Oliveira, Marina Maria Barbosa de  
Aplicação de análise elementar para estimativa de  
composição química de dietas / Marina Maria Barbosa de  
Oliveira. – Recife: O Autor, 2009.  
62 folhas: il., gráf., tab., quadros.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de  
Pernambuco. CCS. Nutrição, 2009.

Inclui bibliografia.

1.Composição de alimentos. 2.Análise elementar.  
3.Composição química. 4. Dietas. I. Título.

613.2	CDU (2.ed.)	UFPE
613.2	CDD (22.ed.)	CCS2010-112

**Marina Maria Barbosa de Oliveira**

**Aplicação de análise elementar para estimativa de composição química de dietas**

Dissertação aprovada em: 28/04/2009

Banca Examinadora



Prof. Dra. Erilane de Castro Lima Machado



Prof. Dra. Beate Saegesser Santos



Prof. Dra. Marisilda de Almeida Ribeiro

Recife – PE

2009

À Alice, Teresa e toda minha família, minha fortaleza,  
Maria da Paz, meu maior orgulho, exemplo de força e dignidade

A meu pai, minha eterna saudade,

A Rodrigo, meu amor, meu porto seguro.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a minha querida família, Maria da Paz, minha mãe, Alice e Teresa, minhas irmãs, e todos os meus familiares, que estiveram sempre ao meu lado em todos esses anos, esteio de amor, sem o qual nada seria.

A meu orientador José Almiro da Paixão, pela credibilidade a mim conferida, amizade e dedicação nos momentos mais críticos desta jornada. Mestre que me ensinou a importância da criticidade, de olhar e ir além, exemplo de profissionalismo e dedicação ao mundo científico.

Minha graditão ao Programa de Pós-graduação em Nutrição, em especial a coordenação na pessoa da Professora Mônica Osório, pelo apoio a mim conferido em momentos cruciais. Agradeço ainda a secretária Neci Nascimento pela solicitude de sempre e cuidados irrestritos.

Agradeço a todos os mestres que contribuíram significativamente para minha formação acadêmica: professoras Erilane Castro, Alda Verônica, Silvana Salgado, Margarida Angélica, Tânia Stanford, Samara Andrade, Nonete Guerra, Edileide Pires.

Às minhas queridas colegas de mestrado e mais que isso, amigas, Michelle, Vivianne, Priscilla e Andrea, pelo afeto, carinho e apoio integral, em todos os momentos bons e em especial nos mais difíceis. Vocês fazem parte desta conquista.

Um agradecimento especial a todos os colaboradores do Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos – LEAAL, Sebastião Camilo, Arthur, Alexandre, Solange, Moisés, Olívia e Lourdes pela amizade e assistência integral em meus experimentos, sem o qual seria impossível a realização deste trabalho.

Às minhas queridas estagiárias, Brenda e Monique, pela dedicação, auxílio nos experimentos, amizade e afeto a mim dedicados.

Agradeço ainda ao Centro Regional de Energia Nuclear - CREN, em especial a Professora Eliane Valentin e ao técnico Alexsandro Nascimento pelo apoio numa etapa crucial de minha pesquisa, cedendo-me espaço para realização de liofilização.

A tantos amigos que estiveram presentes em meu caminho e contribuíram significativamente para essa realização, dando-me força, acreditando em meu potencial e estando sempre ao meu lado. Agradeço em nome de todos a minha grande amiga Renata Pereira, uma irmã escolhida pelo destino, pela voz do coração.

Agradeço em especial, a Rodrigo, meu noivo, ao amor incondicional a mim entregue, por estar ao meu lado nos momentos mais difíceis, por me completar, alimentar meus sonhos, ensinar-me o real sentido da palavra felicidade.

Agradeço, a Deus por sua luz em magnitude, por me conceder a oportunidade de trilhar caminhos cheios de realizações que me levaram ao desenvolvimento como ser humano, crescimento em sabedoria e serenidade, entender que é sempre possível recomeçar, reconstruir, refazer-se, dar um novo início ao que parece apenas ser ponto final.



*A mente que se abre a uma nova idéia jamais voltará ao seu tamanho original.*

ALBERT EINSTEIN

## RESUMO

Estudos através de diferentes metodologias de análise de composição de alimentos parecem uma alternativa de extrema importância na determinação da exatidão de métodos e de procedimentos laboratoriais. O presente trabalho se propõe a avaliar a capacidade preditiva das equações propostas na literatura para análise de composição centesimal através da análise elementar em dietas mistas, assim como analisar a influência do preparo de amostra por diferentes métodos de secagem, e avaliar a variabilidade intrínseca ao método e a amostra correlacionando-as com os métodos oficiais. Dietas mistas, caracterizadas pela refeição almoço (n=40) foram coletadas, processadas e homogeneizadas, dessecadas a peso constante em dois diferentes métodos: liofilização e secagem convencional (estufa a 105°C). Amostras liofilizadas foram destinadas a análise elementar de composição química através da aplicação das equações propostas por Kumae, 2000. As amostras dessecadas em estufa foram também destinadas a análise elementar. A variabilidade foi avaliada de acordo com resultados de análise elementar versus química na estimativa dos principais elementos (Carbono, Hidrogênio, Nitrogênio e Oxigênio) e da análise química (métodos oficiais). O estudo de exatidão de métodos foi delineado partindo de correlação e regressão linear. As amostras demonstraram uma ampla variação de resultados para os macronutrientes avaliados: gordura total (1,65-9,11%), proteína bruta (16,56-35,54%), carboidratos totais (51,12-74,62) quando as dietas foram analisadas por metodologia oficial, demonstrando a dificuldade de padronização de dietas quando avaliadas por base de dados obtidos em laboratórios. Das amostras analisadas, 13 (32%) exibiram CV > 5% para hidrogênio com coeficiente de variação médio de 41,31%, 9 amostras (22%) para nitrogênio e 1 amostra (2,5 %) para carbono, onde estas variações refletem diretamente nos percentuais dos demais elementos, em especial para o oxigênio. A variabilidade da análise elementar parece estar diretamente relacionada à obtenção de dados percentuais de elementos, uma vez que a aplicação das equações esta ligada a quantificação com baixa variação e conseqüente maior repetibilidade dos dados. Uma correlação significativa entre os dois métodos foi observada ( $r=0,82907$ ) para a proteína assim como para o N-total ( $r=0,90745$ ), e fraca correlação para lipídeos e carboidratos. A análise direta do percentual de oxigênio poderá trazer ao estudo de exatidão do método propondo elucidacões quanto a baixa correlação encontrada para carboidratos e lipídeos. A etapa pré-analítica considerando a liofilização e a secagem definitiva como pré-tratamento das amostras, não influenciaram os valores obtidos de correlação do método alternativo. A análise elementar consiste numa razoável ferramenta para a composição química de alimentos e dietas apresentando inúmeras vantagens como rapidez, simplicidade, custo e mão-de-obra reduzidos, porém necessita de mais estudos para elucidacão de variabilidade intrínseca da técnica.

**Palavras chaves:** análise elementar, composição química, dietas

## ABSTRACT

Studies using different methods of analysis of food composition seem an alternative of extreme importance in determining the accuracy of methods and laboratory procedures. This study aims to evaluate the predictive ability of equations proposed in the literature for analysis of proximate composition by elemental analysis in mixed diets, as well as examine the influence of sample preparation by different methods of drying, and assess the variability inherent to the method and correlating them with the official methods. Mixed diets, characterized by the lunch meal (n = 40) were collected, processed and homogenized, desiccated to constant weight in two different methods: freeze drying and conventional drying (oven at 105 ° C). Samples were dried for elemental analysis and chemical to chemical composition by applying the equations proposed by Kumae, 2000. The sample dried in an oven for elemental analysis and estimated as the fractions of the major macronutrients (protein, carbohydrates and lipids). Analysis of variability was assessed according to results of elemental analysis versus chemical in their estimation of the main elements (Carbon, Hydrogen, Nitrogen and Oxygen) and chemical analysis. The study of accuracy of methods is designed based on Linear Regression and Correlation. The samples showed a wide range of results for the evaluated nutrients: total fat (1,65-9,11%), crude protein (16,56-35,54%), total carbohydrates (51,12-74,62) when the diets were analyzed by official methodology for the macronutrients demonstrating the difficulty of standardization of diets when based on data obtained in nutritional tables. Of the samples analyzed, 13 (32%) showed CV > 5% for hydrogen with average coefficient of variation of 41.31%, 9 samples (22%) for nitrogen and 1 sample (2.5%) for carbon, where these variations directly reflect the percentage of other elements, especially for oxygen, obtained by difference. The variability of the elemental analysis appears to be directly related to the percentage of obtaining data elements, since the implementation of the equations related to the quantification with low variation and greater repeatability of data. A significant correlation between the two methods was observed ( $r = 0.82907$ ) for protein and for the N-total ( $r = 0.90745$ ) and low correlation for lipids and carbohydrates. Direct analysis of the perceptual of oxygen could bring the study of accuracy of the method proposed clarifications on the low correlation found for carbohydrates and lipids. The pre-analytical phase, considering the final lyophilization and drying as the pre-treatment samples, did not influenced the values of the correlation method. The elemental analysis is a new method proposed for the chemical composition of foods and diets has many advantages such as speed, simplicity, cost and labor-reduced, but needs further studies to elucidate intrinsic variability of the proposed technique.

**Keywords:** elemental analysis, chemical composition, dietary

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

CV – Coeficiente de Variação

HPLC – High Performance Liquid Chromatography

UV – Ultra violeta

AOAC – American Organization Chemical

FAO – Food Agriculture Organization

WHO – World Health Organization

IV – Infravermelho

C – Carbono

O – Oxigênio

H – Hidrogênio

N – Nitrogênio

A – Cinzas

FC – Coeficiente alimentar

QR – Coeficiente respiratório

PE – Pernambuco

CREN – Centro Regional de Energia Nuclear

LEAAL – Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos

CCEN – Centro de Ciências

UFPE – Universidade Federal de Pernambuco

n – numero de amostras

## LISTA DE TABELAS E QUADROS

### Revisão da Literatura

<b>Quadro 1.</b> Disponibilidade de métodos de análise para nutrientes (idoneidade dos métodos).....	22
<b>Tabela 1.</b> Equações de regressão linear para refeições segundo Kumae, 2000.....	28

### Artigo

<b>Tabela 1.</b> Composição elementar (%) de dietas dessecadas (n=15).....	39
<b>Tabela 2.</b> Composição elementar (%) obtida em dietas liofilizadas (n=40).....	40
<b>Tabela 3.</b> Composição química (g%) obtida por análise elementar em dietas dessecadas (n=15).....	40
<b>Tabela 4.</b> Composição química (g%) de dietas obtidas por análise elementar em dietas liofilizadas (n=40).....	41
<b>Tabela 5.</b> Correlação linear para composição química de dietas submetidas aos dois métodos de secagem (n=15).....	41
<b>Tabela 6.</b> Composição química (g%) de dietas obtidas por métodos oficiais em dietas liofilizadas (n=40).....	45
<b>Tabela 7.</b> Correlação linear para composição química de dietas liofilizadas submetidas análise elementar (n=15).....	47

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Correlação linear de percentuais de proteínas em dietas mistas (secagem por liofilização e convencional).....	42
<b>Figura 2.</b> Correlação linear de percentuais de carboidratos em dietas mistas (secagem por liofilização e convencional).....	43
<b>Figura 3.</b> Correlação linear de percentuais de lipídeos em dietas mistas (secagem por liofilização e convencional).....	44
<b>Figura 4.</b> Correlação linear de percentuais de proteínas em dietas mistas (análise elementar e análise química).....	49
<b>Figura 5.</b> Correlação linear de percentuais de N-total em dietas mistas (análise elementar e análise química).....	50
<b>Figura 6.</b> Correlação linear de percentuais de carboidratos em dietas mistas (análise elementar e análise química).....	51
<b>Figura 7.</b> Correlação linear de percentuais de lipídeos em dietas mistas (análise elementar e análise química).....	52

# SUMÁRIO

<b>1. APRESENTAÇÃO.....</b>	<b>14</b>
1.2 OBJETIVOS.....	16
<b>1.2.1 Objetivo Geral.....</b>	<b>16</b>
<b>1.2.2 Objetivos Específicos.....</b>	<b>16</b>
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>17</b>
2.1 ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ALIMENTOS .....	17
<b>2.1.1 Histórico evolutivo da análise de alimentos .....</b>	<b>17</b>
2.2 MÉTODOS APLICADOS PARA A ESTIMATIVA DE COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ALIMENTOS.....	19
<b>2.2.1 Avaliação e eleição de métodos analíticos .....</b>	<b>20</b>
2.3 MÉTODOS INSTRUMENTAIS APLICADOS A COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE ALIMENTOS	23
<b>2.3.1. Espectroscopia de Infravermelho (IV) .....</b>	<b>23</b>
<b>2.3.2. Ultra-som .....</b>	<b>24</b>
<b>2.3.3 Análise Elementar .....</b>	<b>25</b>
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>29</b>
<b>3.1 Amostra e Plano de Amostragem .....</b>	<b>29</b>
3.2 MÉTODOS ANALÍTICOS.....	30
<b>3.2.1 Composição Química .....</b>	<b>30</b>
<b>3.2.1.1 Métodos Oficiais da Association of Official Analytical Chemists, 2002 .....</b>	<b>30</b>
<b>3.2.1.2 Análise Elementar .....</b>	<b>30</b>
3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	31
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>32</b>
<u>ARTIGO 1:</u> OLIVEIRA, M. M. B. DE; PAIXÃO, J. A. ANÁLISE DE VARIABILIDADE INTRÍNSECA DE ANÁLISE ELEMENTAR APLICADA À COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE DIETAS MISTAS. ....	32
<b>Resumo .....</b>	<b>32</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>33</b>
<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>34</b>
MATERIAL E MÉTODOS.....	35
<b>Amostra e Plano de Amostragem .....</b>	<b>35</b>
<b>Métodos Oficiais da Association of Official Analytical Chemists, AOAC, 2002 .....</b>	<b>36</b>
<b>Análise Elementar .....</b>	<b>36</b>
<b>Análise estatística e Análise de dados.....</b>	<b>38</b>
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
<b>Variabilidade intrínseca ao método de análise elementar .....</b>	<b>45</b>
<b>Estudo de exatidão de métodos na estimativa de composição química de dietas mistas .....</b>	<b>47</b>
CONCLUSÕES.....	53
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	54
<b>5. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS .....</b>	<b>56</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>57</b>

## 1. APRESENTAÇÃO

Os primeiros trabalhos sobre a composição química dos alimentos foram realizados com o objetivo de identificar e determinar as características dos princípios nutritivos que regulam a vida e saúde humana, bem como os mecanismos envolvidos nestes processos (CECCHI, 2003, GREENFIELD *et al*, 2006).

As informações sobre o quantitativo de nutrientes em dieta sempre partiram de tabelas de composição química de alimentos que, atualmente, foram informatizadas constituindo bases de dados, amplamente utilizadas pelos setores da agricultura, indústria alimentícia, saúde pública entre outros (RAND *et al*, 1997; FAO, 2004).

Os dados de composição de alimentos são empregados em nível nacional e internacional para a descrição do valor nutricional de produtos alimentícios e suplementos (rotulagem de produtos), no planejamento de dietas para coletividades sadias e enfermas, e principalmente em estudos de investigação de consumo alimentar e seus efeitos sobre a saúde, reprodução, crescimento e desenvolvimento do organismo humano, permitindo o traçado de perfis alimentares e nutricionais de indivíduos e populações. Portanto, o conhecimento da composição química de dietas é apontado como um dos critérios para avaliação do estado nutricional de indivíduos e de populações constituindo um instrumento para o monitoramento da ingestão de nutrientes e orientação dietética (DWYER, 1994; SALAY, 2005; PENNINGTON, 2007; ZUZANNE *et al*, 2008).

Entretanto, a composição química de alimentos e preparações pode apresentar variações decorrentes do cultivar, tipo de solo, clima, condições de armazenamento e principalmente modo de preparo, consideradas como um ponto de estrangulamento para a adoção e utilização das tabelas de composição de alimentos, apontadas como responsáveis pela diversidade de resultados encontrados quando da avaliação de macro e micronutrientes de dietas (VIEIRA *et al*, 2007; FERREIRA *et al*, 2007).

A complexidade química de dietas processadas bem como da interação entre os nutrientes que a compõe tem exigido da ciência o desenvolvimento de métodos de análise



química cada vez mais acurados, tendo em vista a demanda por esclarecimentos da relação entre consumo alimentar e o binômio saúde-doença (GREENFIELD *et al*, 2006).

Na tentativa de minimizar o problema apresentado o método de análise química direta da dieta em *duplicata*, assim denominada por considerar a análise laboratorial da duplicata do alimento, da refeição e da dieta consumida, tem sido a forma utilizada em inquéritos alimentares para suprir as deficiências metodológicas, desde a infidelidade da informação prestada pelo entrevistado, as falhas de padronização de utensílios e proporções de ingredientes nas preparações, até a falta ou controvérsias de resultados que constituem as bases de dados de composição de alimentos (RIBEIRO *et al*, 2003; MAIHARA *et al*, 2006).

Tendo em vista as condições a que são submetidas às amostras de alimentos durante os procedimentos pré-analíticos, questiona-se a interferência das técnicas utilizadas no resultado final da análise, a exemplo do que ocorre com a desidratação prévia da amostra. Para tanto, a liofilização é um método utilizado em substituição ao método tradicional de secagem em estufa, por conferir um efeito mínimo quanto a modificações químicas na matriz alimentícia (FELLOWS, 2006).

O emprego de diferentes metodologias de análise de composição de alimentos mostra-se uma alternativa importante na busca de métodos e procedimentos laboratoriais simplificados, confiáveis do ponto de vista de exatidão e de fácil aplicação em estudos epidemiológicos de consumo alimentar. Neste contexto, as ciências da Nutrição e da Química Analítica buscam complementaridade, tendo em vista, a evolução destas duas áreas de conhecimento, destacando-se o aprimoramento de técnicas seletivas e avançadas, para confronto de exatidão de antigos e novos métodos químico-analíticos, para efeito de limitações compatíveis e validação (SALAY, 2005).

## **1.2 OBJETIVOS**

### **1.2.1 Objetivo Geral**

Avaliar a capacidade preditiva de equações empregadas em análise elementar para a análise de composição química de dietas mistas.

### **1.2.2 Objetivos Específicos**

Identificar interferências do método de secagem da amostra na fase pré-analítica nas determinações de análise elementar.

Analisar a variabilidade intrínseca do método de análise elementar comparada com métodos oficiais.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ALIMENTOS

#### 2.1.1 Histórico evolutivo da análise de alimentos

A análise de alimentos e dos seus componentes químicos é um dos principais assuntos a serem ressaltados no domínio da Ciência da Nutrição. O objetivo principal da análise é conhecer a composição química do alimento, além de verificar a identidade e pureza de seus componentes, sejam eles de natureza orgânica ou inorgânica (CECCHI, 2003; SILVA *et al*, 2006).

Os dados sobre nutrientes e outros componentes presentes nos alimentos, *in natura* e processados, são necessários em inúmeros campos de conhecimento, tais como nutrição, saúde, agricultura, comércio, marketing, e indústria (SALAY, 2005).

Pode-se considerar que o estudo sistemático da composição de alimentos, teve início no século XVIII, com as descobertas de Lavoisier (1780) demonstrando a natureza da combustão e a relação com o processo de produção de energia em relação ao alimento (CARPENTER, 2003; KOIVISTOINEN, 1996).

Segundo Guintini (2006), no século XVIII Rouel identificou a química de vários componentes em material animal e vegetal por aplicações sucessivas de solventes orgânicos. Frederich John desenvolveu vários métodos de análise química para vegetais e compilou dados de outros autores para cinzas em vegetais; Pearson (1795) realizou a primeira análise quantitativa em alimentos (batatas) estimando a proporção de água, amido, material fibroso, cinzas e outras eventuais substâncias, além de reconhecer a existência de lipídios, ácidos e açúcar (CARPENTER, 2003; KOIVISTOINEN, 1996).

Durante o século XIX surgiram inúmeros avanços com relação ao esclarecimento sobre a produção de energia a partir de alimentos, estabelecendo relações funcionais de cada nutriente. Gay-Lussac e Thenard (1811) realizaram análises quantitativas de Carbono,

Hidrogênio e Nitrogênio. Magendie (1816) identificou diferenças entre carboidratos, proteínas e gorduras nos alimentos. Liebig (1851) dividiu os alimentos em protéicos e não protéicos e compilou uma tabela com o teor nutritivo de uma lista de alimentos. Por outro lado, dados sobre a quantidade de energia produzida na combustão dos alimentos usando um calorímetro foram publicados por Frankland em 1866. Rubner e Atwart realizaram estudo do conteúdo de energia bruta de alimentos, usando bombas calorimétricas (SOUTHGATE, 1970; BUCHHOLZ *et al*, 2004).

Na Alemanha em 1865, o grupo comandado por Henneberger e Stohmann deu início a análise de composição centesimal em ração animal desenvolvendo o método de *Weende*, em homenagem a Estação Experimental de *Weende*. O método denominado proximal, por considerar os resultados de forma estimativa, é o marco de análise de composição centesimal em ração animal e alimentos. O objetivo principal do grupo era obter a classificação mais ampla possível dos componentes da matriz alimentícia com um nível máximo de estratificação química. O sistema de *Weende* foi concebido em um momento em que se conhecia parcialmente a química dos componentes nutricionais. Não obstante, a análise proximal, constituiu a base para o desenvolvimento dos atuais métodos oficiais (AOAC), empregados nas análises de composição química de alimentos e bebidas, rações animais, inclusive com aplicações para fins legais de padrão de identidade de alimentos e produtos alimentícios, determinação de fraudes e adulterações em nível nacional e internacional (BUCHHOLZ *et al*, 2004; CHURCH, 2006; GUINTINI, 2006).

Os maiores avanços no campo de estudo em análise de alimentos ocorreram no século XX, quase sempre, associado com o refinamento de métodos de análise e elaboração de tabelas de composição de alimentos em diversos países. Mitchell (1924) aprimorou estudos sobre a qualidade protéica, determinada pela medida do balanço nitrogenado em animais. Em 1930 Rose e colaboradores iniciaram experimentos sobre as proteínas e seus aminoácidos, purificando dietas e avaliando o balanço nitrogenado em animais, em função de cada aminoácido. Em 1941 Jones sugeriu a substituição do fator de conversão 6,25 até então utilizado como padrão único para o cálculo de proteína em alimentos, por fatores específicos, considerando a composição em aminoácidos de cada alimento, assim como a presença de outros compostos nitrogenados. Em 1957, Rose e colaboradores definiram o que seriam os aminoácidos essenciais. Ainda no início do século XX ocorreram grandes progressos na identificação de vitaminas e do papel dos minerais na nutrição, surgindo tabelas

complementares de composição de alimentos. Após a II Guerra Mundial a FAO estimulou estudos sobre a composição de alimentos, através de cooperação internacional. Durante as décadas de 70 e 80, houve acentuado avanço na área de análise de alimentos, quando foram desenvolvidos métodos mais precisos e confiáveis, sendo possível a identificação de proteínas e seus isômeros por HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) (AUGUSTIN, 1994; KOIVISTOINEN, 1996).

## **2.2 MÉTODOS APLICADOS PARA A ESTIMATIVA DE COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ALIMENTOS**

Existem duas categorias básicas de métodos de análise de alimentos: os métodos convencionais e os métodos instrumentais, baseados em química estequiométrica conhecida como o N-total (exemplo de método convencional), ou propriedades específicas nutricionais, tais como vitaminas e minerais, exemplificando os métodos instrumentais como HPLC para determinação de vitaminas e absorção atômica na análise de minerais (CECCHI, 2003).

Os métodos convencionais empregam instrumentação pouco sofisticada, ou seja, vidrarias, reagentes e/ou equipamentos automatizados, porém de fácil manuseio, a exemplo do que ocorre na etapa de destilação durante a determinação de N-total. Geralmente os resultados são expressos segundo relações estequiométricas bem estabelecidas (IAL, 2008; SILVA, 2006).

Os métodos instrumentais, por sua vez utilizam equipamentos eletrônicos mais sofisticados, associados a propriedades físicas da matéria, através das interações existentes entre a matéria e energia (absorção, emissão e fluorescência) o que propicia leituras mais confiáveis, além de maior especificidade, sensibilidade e precisão dos resultados. Como exemplos podem ser citados: leituras de absorção de radiações nas faixas de comprimento de onda compreendidas no UV e Visível e infravermelho utilizados para matéria orgânica e absorção e emissão atômica utilizados para determinações analíticas em matéria inorgânica (EWING, 1972; SOARES, 2006).

Atualmente, os métodos convencionais vêm sendo substituídos paulatinamente por métodos instrumentais, levando-se em consideração aspectos relativos à natureza das substâncias e nutrientes envolvidos, a matriz alimentícia, custos, disponibilidade instrumental e de possibilidade de automação (GUIMARÃES *et al*, 2002).

### **2.2.1 Avaliação e eleição de métodos analíticos**

Para a obtenção de dados fidedignos sobre a composição química de nutrientes dos alimentos é imprescindível a escolha correta do método analítico para determinado composto, bem como sua aplicação metodológica, tendo como critério a exatidão, considerando a matriz alimentícia (SOUTHGATE *et al*, 2002).

Em alguns países, a eleição do método analítico para produtos alimentícios pode estar estabelecida na legislação. Em outros, a regulamentação permite utilizar métodos que produzam resultados comparáveis com os métodos oficiais, e correlações estatísticas, proporcionando estudos de exatidão entre métodos, visando estabelecer novas metodologias simplificadas e confiáveis (DWYER, 1994; FAO, 2004).

Na atualidade há várias limitações metodológicas na produção de dados para determinados nutrientes. A disponibilidade e idoneidade de métodos de análise para vários nutrientes são destacadas por Stewart, 1981 e tem sido atualizadas no Quadro 1, que apresenta uma versão revisada por Deharveng *et al.*, 1999 em exame realizado para avaliar a compatibilidade dos métodos. Os métodos BONS são aqueles avaliados amplamente em ensaios realizados em colaboração entre vários laboratórios, os métodos ADEQUADOS têm sido aqueles objetos de estudos mais limitados, e os métodos classificados como NÃO ADEQUADOS PARA CERTOS ALIMENTOS, não tem sido estudados em ampla variedade de matrizes alimentícias.

No referido Quadro observa-se a ausência de métodos para determinação de lignina e alguns isômeros de folato. Por outro lado, observa-se ainda na quarta coluna do mesmo quadro, que para determinação de proteínas, nitrogênio não protéico, alguns ácidos graxos, cromo, ferro heme, cobalto, molibdênio e alguns isômeros de carotenóides e vitamina K, os

métodos existentes mostram-se inadequados para certos alimentos. Neste sentido organismos internacionais relacionados a estudos em química analítica como a American Organization Analysis Chemical (AOAC) e Food Agriculture Organization (FAO) / World Health Organization (WHO), têm trabalhado na avaliação e melhoramento dos métodos, para obtenção de padrões de referência que atendam o crescente interesse pela composição dos nutrientes nos alimentos e o monitoramento destes, impostos pela legislação (SOUTHGATE *et al*, 2002; GREENFIELD *et al*, 2006).

Para Egan (1974), a eleição de um método deve considerar outros aspectos, tais como: estabelecida mediante estudos em colaboração com intervenção de vários laboratórios; métodos recomendados ou adaptados por organismos internacionais; métodos aplicáveis a uma variedade de matrizes alimentícias (GREENFIELD *et al*, 2006).

O método eleito deve apresentar ainda características de *performance* analítica fornecidos pelos critérios de confiabilidade (especificidade, exatidão, precisão e sensibilidade) e de exequibilidade (rapidez, custos, conhecimento técnico, segurança de operação no laboratório) (SOUTHGATE *et al*, 2002; GREENFIELD *et al*, 2006).

**Quadro 1.** Disponibilidade de métodos de análise para nutrientes (idoneidade dos métodos).

<b>Nutriente</b>	<b>Bom</b>	<b>Adequado</b>	<b>Não adequado para certos alimentos</b>	<b>Ausente</b>
Umidade	Umidade			
Compostos nitrogenados	Nitrogênio total, aminoácidos		Proteínas, nitrogênio protéico não	
Componentes lipídicos	Ácidos graxos	Colesterol, fosfolipídeos, ácidos graxos trans, triacilgliceróis individuais	Alguns ácidos graxos	
Carboidratos e fibra dietética	Açúcares individuais, amido, polissacarídeos não amiláceos	Fibra dietética total, polissacarídeos não amiláceos individuais, amido resistente		Lignina
Nutrientes inorgânicos	Sódio, potássio, cálcio, magnésio, fósforo, ferro, cobre, zinco, boro, cloro	Selênio, magnésio, flúor	Cromo, ferro heme, cobalto, molibdênio	
Vitaminas	Tiamina, riboflavina, niacina	Vitamina C, retinol, carotenóides, vitamina E, vitamina D, vitamina B <sub>6</sub> , folatos totais, ácido fólico, biotina, ácido pantatênico, vitamina B <sub>12</sub>	Alguns isômeros de carotenóides, vitamina K	Alguns isômeros de folatos

Fonte: GREENFIELD & SOUTHGATE, 2006



## 2.3 MÉTODOS INSTRUMENTAIS APLICADOS A COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE ALIMENTOS

A evolução da química analítica e de novas tecnologias analíticas tem ampliado a aplicação de instrumentos direcionados a superar, em termos analíticos, os métodos convencionais, por vezes morosos, inespecíficos para determinados compostos e dependentes da qualificação técnica e laboratorial. Todavia, muitos destes métodos têm sido aperfeiçoados no intuito de produzirem resultados mais específicos, rápidos e com maior precisão e exatidão, a fim de integrar e substanciar as tabelas de composição química dos alimentos.

### 2.3.1. Espectroscopia de Infravermelho (IV)

Este método instrumental baseia-se na absorção da radiação eletromagnética na região do infravermelho por grupamentos químicos específicos, relacionada com o estiramento, vibrações e rotações moleculares, fornecendo um espectro complexo, que é utilizado na identificação e quantificação de compostos orgânicos nos alimentos. Recentemente, este método vem sendo aplicado para a determinação da composição centesimal de alimentos e refeições mistas, em análises quantitativas (POMERANZ *et al.*, 2000; SHON, *et al.*, 2005; SOARES, 2006; KIM, *et al.*, 2007).

O citado método fundamenta-se na identificação de bandas específicas geradas nas regiões do IV proximal ( $\lambda=0,7-2,5 \mu\text{m}$ ) acoplado ou não ao interferômetro de reflexão interna múltipla para cada grupo de nutrientes, devido aos grupamentos específicos que absorvem em determinados comprimentos de onda, além das faixas de IV médio ( $\lambda=2,5-50 \mu\text{m}$ ) e distante ( $\lambda=50-1.000 \mu\text{m}$ ), utilizadas em geral para fins qualitativos (GIANGIACOMO *et al.*, 2007; KHODABUX *et al.*, 2007).

Dennis, *et al.*, 2006, em estudo realizado com refeições tratadas como ao natural e compostas pelos três grupos básicos de alimentos (vegetais, proteínas animais e grãos e cereais), verificou a determinação de bandas características para os macronutrientes na faixa de comprimento de onda variando de 400 a 2498nm, sendo destacadas as principais, a saber: para umidade, banda em 1400nm devido ao grupamento -OH; para proteína, bandas em

1692nm e 2070-2306nm, devido aos grupamentos N-amida e estiramentos H, respectivamente; para carboidratos em 1702 e 2000-2300nm, devido aos grupamentos O e H- C- H; para gorduras apresentaram melhor absorção na faixa de comprimento de onda de 1728 – 1782nm, devido as ligações do tipo C- H ; com relação a composição de energia foram somadas as bandas relacionadas aos lipídios (1210nm, 1398nm, 1726nm, para as ligações tipo C- H), às dos carboidratos (2282nm para – OH e C – C, para o amido). Os dados quantitativos obtidos quando comparados a métodos oficiais por estudos de correlação, apresentaram forte correlação linear. Entretanto, novas calibrações são sugeridas para teste de validação de distintas matrizes, assim como maior número de amostras dentro dos subgrupos de diferentes tipos de refeições (DENNIS, *et al*, 2006).

Recentemente, outros estudos foram realizados aplicando essa metodologia para determinação de fibra dietética em alimentos, teor de umidade, proteínas e açúcar total em café. Também foi utilizada para determinação de valor energético, carboidratos, proteína e gordura em fórmulas infantis e leite em pó. Os resultados dos trabalhos citados mostraram-se satisfatórios, servindo de base para a validação dessa metodologia na determinação da composição química de alimentos (KIM *et al*, 2006; MORGANO *et al*, 2008; MORGANO *et al*, 2005; MORGANO *et al*, 2007; MOROS *et al*, 2007).

### **2.3.2. Ultra-som**

O desenvolvimento da metodologia por ultra-som é fundamentado no princípio de que o movimento de qualquer onda é afetado pelo meio de propagação, permitindo o fornecimento de informações acerca desse meio a partir da análise da transmissão ou da reflexão dos sinais gerados (FELLOWS, 2006).

A técnica de ultra-som utiliza ondas sonoras de alta frequência (acima da percepção auditiva humana) que imprimem forças intermoleculares aos materiais em teste. As oscilações de compressão ou descompressão das ondas ultra-sônicas causam oscilações no arranjo molecular da amostra, que responde com forças de atração ou repulsão intermoleculares. As amplitudes de deformação nas ondas ultra-sônicas são extremamente pequenas, tornando a técnica não destrutiva, o que representa uma oportunidade na caracterização de produtos alimentícios notadamente na base úmida. Assim sendo, o ultra-som de baixa intensidade tem

sido aplicado para determinar características físico-químicas em alimentos, destacando-se por ser uma técnica rápida, não-destrutiva, precisa e automatizada, sem extensa preparação da amostra (MULET *et al*, 1999; SAGGIN *et al*, 2001).

A medida da composição do alimento é dada pela relação da velocidade das ondas de ultra-som em meio aquoso e os sólidos dissolvidos, observando-se um aumento da velocidade proporcional ao teor de água no alimento e do aumento da temperatura. Por outro lado o inverso ocorre quando há presença de gordura. Neste caso a velocidade é reduzida independente do aumento da temperatura (CHANAMAI; McCLEMENTS, 1999; MULET *et al*, 2002).

Muitos estudos têm sido aprimorados para relacionar a velocidade do ultra-som à determinação do teor de gordura, umidade e extrato não gorduroso em matrizes alimentícias. Este método é bastante utilizado em análise de composição centesimal de carcaças bovinas para triagem dos animais pré-abate de suínos e bovinos e qualificação de cortes de carnes, fazendo referência ao conteúdo de lipídeos totais e de fração reduzida e livre de gordura (TAROUCO *et al*, 2005; TAROUCO *et al*, 2007).

A técnica de ultra-som é também utilizada, em escala industrial, para análise de composição química de leite e derivados como, por exemplo, queijos, leites fermentados, soro de leite, para caracterização físico-química deste grupo de alimentos, tais como sólidos totais, lipídeos, proteínas e umidade. Pode ainda fornecer dados de composição do leite de diferentes espécies de ruminantes, particularmente, no que se refere à composição mínima de gorduras, carboidratos e proteínas, funcionando como excelente método para padronização de produtos lácteos (VENTUROSOSO *et al*, 2007; PONSOMO *et al*, 2006).

### **2.3.3 Análise Elementar**

A composição centesimal de alimentos pode ser obtida a partir da composição elementar Carbono (C), Hidrogênio (H), Nitrogênio (N) e Oxigênio (O) através da aplicação de equações preditivas descritas por KUMAE (2000; 2001).

O método proposto foi validado para a determinação da composição química dos principais nutrientes: proteínas (53C; 7H; 22O; 16N; 2S), lipídeos (75,7C; 12,4H; 11,9 O) e carboidratos (44,5C; 6,2H; 49,3O), constituídos basicamente pelos elementos majoritários (KUMAE, 2000; 2001).

Segundo a metodologia proposta por Kumae, (2000, 2001) para análise de alimentos cozidos, refeições e dietas, são necessárias, apenas, 2mg da amostra previamente liofilizada e análise em duplicata. As amostras devem ser desidratadas previamente por liofilização a fim de tornar a matriz apropriada para a aplicação da análise elementar.

O analisador elementar consiste em completa incineração a uma temperatura de aproximadamente 1000°C com uma mistura de gás Hélio (gás para arraste) e gás oxigênio puro (para combustão e oxidação dos compostos), promovendo a conversão dos principais elementos orgânicos nos gases H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> e outros gases, determinando-se a partir daí a composição elementar de C, H, N e O (ANON., 1997).

Os percentuais dos elementos são calculados a partir da proporção dos gases liberados em relação a matéria incinerada. Estes gases são separados através de uma coluna de cromatografia gasosa associada a detector de condutividade térmica. A análise é realizada no em aproximadamente 7 minutos desde a combustão completa da amostra até a corrida cromatográfica e obtenção dos dados quantitativos. Os valores de oxigênio são obtidos por diferença em relação aos demais elementos, ou alternativamente podem ser analisados diretamente em metodologia diferenciada que após a pirólise a 1060°C, converte todo O<sub>2</sub> em CO<sub>2</sub>, gerando ainda N<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O e CH<sub>4</sub> e gases ácidos. O monóxido de carbono é separado dos demais gases por uma coluna cromatográfica a 60°C e os demais ficam retidos por uma substância adsorvente no final do tubo de pirólise (ANON., 1997; DENNIS *et al*, 2006).

As medidas percentuais de composição elementar aplicadas nas equações simultâneas desenvolvidas (1, 2, 3 e 4) por Kumae (2000) que prediz em determinação da composição centesimal de alimentos e refeições. Estas equações foram geradas a partir do Coeficiente Alimentar (FC) (Equação 1) que tem relação direta com o coeficiente respiratório (QR), ou seja, quanto de energia é liberada para a combustão completa de um determinado nutriente durante o processo de metabolização em relação ao consumo de oxigênio, correspondendo ao

valor aproximado de 1,0 para o carboidrato; 0,7 para gordura e 0,85 para proteína (KUMAE, 2000).

$$FC = [C\% - N\% \times (CA/NA \times 0,5)] / [C\% - N\% \times (CA/NA \times 0,75) + H\% \times (CA/OA \times 0,25) - O\% \times (CA/OA \times 0,5)]$$

(Equação 1)

Onde C%, H%, N% e O% são os valores medidos de carbono, hidrogênio, nitrogênio e oxigênio, respectivamente. CA, HA, NA, e OA, são os pesos atômicos do carbono (12,011), hidrogênio (1,008), nitrogênio (14,007), e oxigênio (15,999), respectivamente. FC corresponde ao coeficiente alimentar.

$$SFC = 0,834 \times P + 0,701 \times F + 1,000 \times C$$

(Equação 2)

Onde SFC é o percentual do fator alimentar baseado no coeficiente respiratório usado em estudos metabólicos da relação de consumo de O<sub>2</sub> e produção de CO<sub>2</sub> versus o nutriente utilizado. P= proteína, F= lipídios, C= carboidratos e A= cinzas.

$$SN\% = 16,0 \times P$$

(Equação 3)

Onde SN% é o percentual de nitrogênio e P= proteína.

$$1,00 = P + F + C + A$$

(Equação 1)

Onde P= proteína, F= lipídios, C= carboidratos e A= cinzas.

As amostras analisadas, representadas por refeições mistas e prontas para o consumo foram processadas utilizando a liofilização como técnica pré-analítica, uma vez que esta técnica retira a água livre da matriz com o mínimo de interferência e alterações. A utilização deste processo sugere em maiores implicações financeiras podendo inviabilizar pesquisas nesta área ao se aplicar a metodologias para estudos populacionais. A partir de tais

considerações, a secagem convencional, ou seja, em estufa pode ser uma alternativa viável frente à liofilização (FELLOWS, 2006). Estudos comparativos utilizando estes dois processos de desidratação da amostra são escassos na literatura em particular investigando o reflexo na análise elementar.

KUMAE, (2000; 2001) comparou resultados da análise elementar aos métodos oficiais (Soxhlet para gordura bruta, Kjeldahl para N-total e carboidrato por diferença) para obtenção da composição química de alimentos. Utilizando testes de correlação, o autor identificou forte correlação linear entre os métodos (Tabela 1), demonstrando a possibilidade de utilização do método que apresentou vantagens tais como rapidez e custo, podendo assim ser indicado para estudos populacionais de consumo dietético.

**Tabela 1.** Equações de regressão linear para refeições segundo Kumae, 2000.

	<b>Almoços</b>	<b>Pratos prontos</b>
Lipídeos	$Y = 0,501X + 0,091$ ( $r=0,812$ $n=40$ $p <0,001$ )	$Y=0,774X + 0,0741$ ( $r=0,902$ $n=40$ $p <0,001$ )
Carboidratos	$Y = 0,832X + 0,071$ ( $r=0,910$ $n=40$ $p <0,001$ )	$Y=0,962 X+ 0,0004$ ( $r=0,926$ $n=40$ $p <0,001$ )

Fonte: KUMAE, 2000.

O método de análise elementar, conforme apresentado neste trabalho, mostrou-se alternativo para a determinação da composição básica de alimentos e dietas. Na literatura são escassos os trabalhos que utilizam a análise elementar, a substituição da liofilização pelo método de desidratação estenderia ainda mais esta aplicação desde que confronte a métodos oficiais.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Amostra e Plano de Amostragem

A amostra foi constituída de refeições tipo almoço (n=40) coletadas na Unidade de Alimentação e Nutrição do Hospital Universitário das Clínicas de Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE. Cada refeição era composta de preparações de salada crua, salada cozida, carne (de boi, frango ou peixe), feijão, arroz ou macarrão.

As amostras foram coletadas em duplicata, descartadas as partes não comestíveis como ossos, cascas, sementes, e outros. Em seguida, as amostras foram trituradas em processador elétrico do tipo *Politron* com facas, para homogeneização completa e foram pesadas. Alíquotas de 2-3g foram retiradas imediatamente após a homogeneização para obtenção da umidade segundo AOAC, 2002.

Alíquotas (≈100g) das amostras foram submetidas a dois diferentes processos de desidratação a peso constante por aproximadamente 5 dias (Figura 1):

1. Liofilização (n=40), realizada no Centro Regional de Energia Nuclear (CREN), UFPE.
2. Secagem definitiva em estufa a 105°C (n=15) realizada no Laboratório Experimentação e Análise de Alimentos (LEAAL), UFPE.

Após a secagem das amostras, estas foram novamente trituradas e armazenadas em ambiente sob temperatura controlada ( $\pm 20^{\circ}\text{C}$ ) em local seco e arejado. Antes de serem submetidas à análise elementar e demais determinações analíticas as amostras foram novamente liofilizadas ou dessecadas.

## **3.2 Métodos Analíticos**

### **3.2.1 Composição Química**

Alíquotas de 2-3g das amostras úmidas processadas foram retiradas para imediata determinação de umidade em estufa a 105°C, método 935.29-27.3.01, segundo AOAC, 2002, até obtenção do peso constante, com a finalidade de expressar o resultado em base seca.

A composição centesimal foi determinada através da aplicação de duas metodologias: métodos oficiais para composição química de alimentos da AOAC (2002) e Análise elementar segundo Kumae (2000).

#### **3.2.1.1 Métodos Oficiais da Association of Official Analytical Chemists, 2002**

O resíduo mineral fixo/cinzas foi obtido por incineração a 550°C por 4h (método 930.22-32.3.08); extrato etéreo pelo método de Soxhlet por extração contínua com éter de 4 a 5h (método 963.15-31.4.02); proteínas método de Kjeldahl com medida de N-total (método 991.20-33.2.11), com carboidratos obtidos por diferença [100 – (umidade + proteína + extrato etéreo + resíduo mineral fixo)] .

As análises químicas foram realizadas em duplicata, com valores expressos em média  $\pm$  desvio padrão, com coeficiente de variação aceitável <5%. As análises foram realizadas no Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos, Prof<sup>o</sup> Nonete Barbosa Guerra, Departamento de Nutrição da UFPE.

#### **3.2.1.2 Análise Elementar**

A estimativa da composição centesimal dos macronutrientes (proteínas, lipídeos e carboidratos) foi obtida utilizando-se o quantitativo percentual dos elementos carbono,



hidrogênio, nitrogênio e oxigênio presente nas amostras e determinado pelo método de análise elementar aplicando-se equações preditivas segundo Kumae (2000). As análises foram realizadas em duplicata.

Os dados quantitativos desses elementos foram obtidos pela análise elementar através da combustão completa da amostra até a corrida cromatográfica ( $\approx 8$  min). As análises foram realizadas com aparelho Carlo Erba EA1110 – CHNS da Central Analítica do Departamento de Química Fundamental, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, UFPE.

### 3.3 Análise Estatística

A variabilidade dos dados experimentais das duplicatas nas análises laboratoriais para composição centesimal, tanto para a análise química quanto a análise elementar, foi expressa e avaliada em média,  $\pm$  dp (desvio padrão), mediana, moda e mínimo-máximo.

O estudo de exatidão de métodos foi delineado partindo de Análise de Variância (ANOVA), Statistic, 2000 e testes de correlação e regressão linear, através do *software Microcal Origin*. Para interpretação dos dados de correlação linear considerou-se valores de  $R^2 < 0,3$  para fraca correlação,  $0,3 \leq R^2 < 0,5$  para boa correlação e  $R^2 \geq 0,5$  para forte correlação.

## 4. RESULTADOS

### **Artigo 1: OLIVEIRA, M. M. B. de; PAIXÃO, J. A. Análise de variabilidade intrínseca de análise elementar aplicada à composição química de dietas mistas.**

#### **Resumo**

A composição de proteínas, gorduras e carboidratos em alimentos pode ser estimada pela técnica de análise elementar, com vantagens em rapidez e simplicidade quando comparado aos métodos tradicionais. Etapas relacionadas ao preparo de amostra para análise e variabilidade intrínseca existente do método de análise elementar ainda necessitam de elucidação em estudos de exatidão analítica para a aplicabilidade de nova metodologia para a estimativa de composição química de alimentos com maior segurança analítica. O presente trabalho se propõe a avaliar a capacidade preditiva das equações propostas na literatura para análise de composição centesimal através da análise elementar em dietas mistas, assim como analisar a influência do preparo de amostra por diferentes métodos de secagem, e avaliar a variabilidade intrínseca ao método e a amostra correlacionando-as com os métodos oficiais. Dietas mistas, caracterizadas pela refeição almoço (n=40) foram coletadas, processadas e homogeneizadas, dessecadas a peso constante em dois diferentes métodos: liofilização e secagem convencional (estufa a 105°C). Amostras liofilizadas foram destinadas a análise elementar e química para composição química através da aplicação das equações propostas por Kumae, 2000. A amostra dessecada em estufa foi destinada a análise elementar sendo estimadas assim as frações principais dos macronutrientes (proteínas, lipídeos e carboidratos). Análise de variabilidade foi avaliada de acordo com resultados de análise elementar *versus* química na estimativa respectiva dos principais elementos (Carbono, Hidrogênio, Nitrogênio e Oxigênio) e da análise química. O estudo de exatidão de métodos foi delineado partindo de Correlação e Regressão linear. As amostras demonstraram uma ampla faixa de resultados para os macronutrientes avaliados: gordura total (1,65-9,11%), proteína bruta (16,56-35,54%), carboidratos totais (51,12-74,62) quando as dietas foram analisadas por metodologia oficial para os respectivos macronutrientes demonstrando a dificuldade de padronização de dietas quando avaliadas por base de dados obtidos em tabelas nutricionais. Das amostras analisadas, 13 (32%) exibem CV > 5% para hidrogênio com coeficiente de variação médio de 41,31%, 9 amostras (22%) para nitrogênio e 1 amostra (2,5 %) para carbono, onde estas variações refletem diretamente nos percentuais dos demais elementos, em especial para o oxigênio, obtido por diferença. A variabilidade da análise elementar parece estar diretamente relacionada à obtenção de dados percentuais de elementos, uma vez que a aplicação das equações esta ligada a quantificação com baixa variação e conseqüente maior repetibilidade dos dados. Uma correlação significativa entre os dois métodos foi observada ( $r=0,82907$ ) para a proteína assim como para o N-total ( $r=0,90745$ ), e fraca correlação para lipídeos e carboidratos. A etapa pré-analítica, considerando a liofilização e a secagem definitiva como pré-tratamento às amostras não influenciaram marcadamente os valores obtidos de correlação do método alternativo.

**Palavras chave:** análise elementar, composição química, dietas

## Abstract

The composition of proteins, fats and carbohydrates in foods can be estimated by the technique of elemental analysis, with advantages in speed and simplicity when compared to traditional methods. Steps related to the preparation of samples for analysis and inherent variability of the existing method of elemental analysis still need clarification on accuracy of analytical studies for the applicability of new methodology for the estimation of chemical composition of foods with greater security role. We propose a study to evaluate the predictive ability of equations proposed for proximate composition by elemental analysis in mixed diets, an analysis of the intrinsic variability of the method proposed for official methodology and influence of the preparation of sample. Mixed diets, characterized by the lunch meal (n = 40) were collected, processed and homogenized, desiccated to constant weight in two different methods: freeze drying and conventional drying (oven at 105 ° C). Samples were dried for elemental analysis and chemical to chemical composition by applying the equations proposed by Kumae, 2000. The sample dried in an oven for elemental analysis and estimated as the fractions of the major macronutrients (protein, carbohydrates and lipids). Analysis of variability was assessed according to results of elemental analysis versus chemical in their estimation of the main elements (Carbon, Hydrogen, Nitrogen and Oxygen) and chemical analysis. The study of accuracy of methods is designed based on correlation and linear regression. The samples showed a wide range of results for the evaluated nutrients: total fat (1,65-9,11%), crude protein (16,56-35,54%), total carbohydrates (51,12-74,62) when the diets were analyzed by official methodology for the macronutrients demonstrating the difficulty of standardization of diets when evaluated based on data obtained in nutritional tables. Of the samples analyzed, 13 (32%) show CV > 5% for hydrogen with average coefficient of variation of 41.31%, 9 samples (22%) for nitrogen and 1 sample (2.5%) for carbon, where these variations directly reflect the percentage of other elements, especially for oxygen, obtained by difference. The variability of the elemental analysis appears to be directly related to the percentage of obtaining data elements, since the implementation of the equations related to the quantification with low variation and consequent greater repeatability of data. A significant correlation between the two methods was observed ( $r = 0.82907$ ) for protein and for the N-total ( $r = 0.90745$ ) and low correlation for lipids and carbohydrates. The pre-analytical phase, considering the final drying and lyophilization as pre-treatment of samples did not influence markedly the values of the correlation method.

**Keywords:** elemental analysis, chemical composition, dietary

## INTRODUÇÃO

O conhecimento acerca da composição química de dietas é um dos critérios utilizados para avaliação do estado nutricional de indivíduos e populações, além de instrumento para o monitoramento da ingestão de nutrientes e orientação dietética, com vista à promoção da saúde e prevenção de doenças (SALAY *et al*, 2005; MAIHARA *et al*, 2007; ZUZANNE *et al*, 2008).

Os bancos de dados destinados à análise de dietas, em sua maioria, desconsideram as formas de preparo e armazenamento dos alimentos além de outros fatores ambientais como solo e clima. Assim, justifica-se em parte, as discrepâncias encontradas entre o consumo alimentar real e o estimado por tabelas de composição de alimentos. (TORRES *et al*, 2002; RIBEIRO *et al*, 2003; PENNINGTON *et al*, 2007)

A complexidade química de dietas processadas bem como da interação entre os nutrientes que a compõe tem exigido da ciência o desenvolvimento de métodos de análise química cada vez mais acurados, tendo em vista a demanda por esclarecimentos da relação entre consumo alimentar e o binômio saúde-doença (GREENFIELD *et al*, 2006).

KUMAE (2000; 2001) demonstraram que as quantidades de proteínas, gorduras e carboidratos em alimentos podem ser estimadas pela técnica de análise elementar, com vantagens em rapidez e simplicidade quando comparado aos métodos convencionais. Através do analisador elementar ocorre completa incineração da amostra a uma temperatura de aproximadamente 1000°C com uma mistura de gás Hélio (gás para arraste) e gás oxigênio puro (para combustão e oxidação dos compostos), promovendo a conversão dos elementos orgânicos nos gases H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> e outros gases quantificados através de coluna de cromatografia gasosa acoplada a detector de condutividade térmica convertidos em percentual de N, H e C, com oxigênio obtido por diferença (ANON., 1997; DENNIS *et al*, 2006) .

Nesta metodologia, alimentos cozidos, refeições e dietas são analisadas necessitando apenas cerca de 2mg da amostra previamente liofilizada com análises em duplicatas, onde a composição em macronutrientes foi obtida através da aplicação de equações simultâneas com

dados de composição elementar das amostras (C, H e N) enquanto que o O foi avaliado por diferença. Observou-se forte correlação do método de análise elementar quando comparado a métodos oficiais de composição química de alimentos ( $r=0,902$ ,  $n=40$ ,  $p<0,001$  para lipídeos;  $r=0,926$   $n=40$   $p <0,001$  para carboidratos). Todavia, o estudo iniciado com 120 amostras apresentou dados de apenas 40 replicatas, o que sugere elevada variabilidade intrínseca ao método ainda pouco elucidada e provavelmente elevada para este tipo de matriz (KUMAE, 2000, 2001).

Tendo em vista as condições a que são submetidas às amostras de alimentos durante os procedimentos pré-analíticos, questiona-se a interferência das técnicas utilizadas no resultado final da análise, a exemplo do que ocorre com a desidratação previa da amostra. Neste sentido, justifica-se a realização deste trabalho que tem como objetivos identificar interferências do método de secagem da amostra na fase pré-analítica nas determinações de análise elementar e avaliar a capacidade preditiva de equações empregadas em análise elementar para a composição centesimal de dietas mistas.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Amostra e Plano de Amostragem**

A amostra foi constituída por refeições tipo almoço ( $n=40$ ), coletadas na Unidade de Alimentação e Nutrição do Hospital Universitário das Clínicas de Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE. Cada refeição era composta de preparações de salada crua, salada cozida, carne (de boi, frango ou peixe), feijão, arroz ou macarrão.

As amostras foram coletadas em duplicata, descartadas as partes não comestíveis como ossos, cascas, sementes, e outros. Em seguida, as amostras foram trituradas em processador elétrico do tipo *Politron* com facas, para homogeneização completa. Alíquotas de 2-3g foram retiradas imediatamente após a homogeneização para obtenção da umidade segundo AOAC, 2002.

Alíquotas ( $\approx 100\text{g}$ ) das amostras foram submetidas a dois diferentes processos de desidratação a peso constante por aproximadamente 5 dias:

1. Liofilização (n=40),
2. Secagem definitiva em estufa a  $105^{\circ}\text{C}$  (n=15)

Após a secagem das amostras, estas foram novamente trituradas e armazenadas em ambiente sob temperatura controlada ( $\pm 20^{\circ}\text{C}$ ) em local seco e arejado. Antes de serem submetidas à análise elementar e demais determinações analíticas as amostras foram novamente liofilizadas ou dessecadas.

### **Métodos Oficiais da Association of Official Analytical Chemists, AOAC, 2002**

Alíquotas de 2-3g das amostras úmidas processadas foram retiradas para imediata determinação de umidade em estufa a  $105^{\circ}\text{C}$  por 24h, método 935.29-27.3.01, segundo AOAC (2002), até obter o peso constante, com a finalidade de expressar o resultado em base seca.

O resíduo mineral fixo/cinzas foi obtido por incineração a  $550^{\circ}\text{C}$  por 4h (método 930.22-32.3.08); extrato etéreo pelo método de Soxhlet por extração contínua com éter de 4 a 5h (método 963.15-31.4.02); proteínas método de Kjeldahl com medida de N-total (método 991.20-33.2.11), com carboidratos obtidos por diferença [100 – (umidade + proteína + extrato etéreo + resíduo mineral fixo)].

### **Análise Elementar**

A estimativa da composição centesimal dos macronutrientes (proteínas, lipídeos e carboidratos) foi obtida utilizando o quantitativo percentual dos elementos carbono, hidrogênio, nitrogênio e oxigênio presente nas amostras e determinado pelo método de análise elementar aplicando-se equações preditivas segundo Kumae (2000). As análises foram realizadas em duplicata.

As amostras (2 mg) foram completamente incineradas em um analisador elementar, a uma temperatura de aproximadamente 1000°C com uma mistura de gás Hélio (para arraste) gás oxigênio puro (para combustão e oxidação dos compostos), promovendo a conversão dos elementos em H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> e outros gases. Os percentuais dos elementos nitrogênio, carbono e hidrogênio, respectivamente, calculados a partir da proporção destes elementos, foram separados e detectados por uma coluna de cromatografia gasosa (Porapack PQS) associada a um detector de condutividade térmica. Os valores de oxigênio foram obtidos por diferença em relação aos demais elementos.

Os dados quantitativos dos elementos foram obtidos pela análise elementar através da combustão completa da amostra até a corrida cromatográfica (≈8 min). As análises foram realizadas com aparelho Carlo Erba EA1110 – CHNS.

Os resultados da composição química foram obtidos através da aplicação dos resultados de percentuais dos elementos da análise elementar nas seguintes equações simultâneas para a obtenção dos percentuais dos macronutrientes (proteínas, lipídeos e carboidratos):

$$FC = [C\% - N\% \times (CA/NA \times 0,5)] / [C\% - N\% \times (CA/NA \times 0,75) + H\% \times (CA/OA \times 0,25) - O\% \times (CA/OA \times 0,5)],$$

(Equação 1)

onde C%, H%, N% e O% são os valores medidos de carbono, hidrogênio, nitrogênio e oxigênio, respectivamente. CA, HA, NA, e OA, são os pesos atômicos do carbono (12,011), hidrogênio (1,008), nitrogênio (14,007), e oxigênio (15,999), respectivamente. FC corresponde ao coeficiente alimentar.

$$SFC = 0,834 \times P + 0,701 \times F + 1,000 \times C$$

(Equação 2)

Onde SFC é o percentual do fator alimentar baseado no coeficiente respiratório usado em estudos metabólicos da relação de consumo de O<sub>2</sub> e produção de CO<sub>2</sub> versus o nutriente utilizado. P= proteína, F= lipídios, C= carboidratos e A= cinzas.

$$\text{SN\%} = 16,0 \times \text{P}$$

(Equação 3)

Onde SN% é o percentual de nitrogênio e P= proteína.

$$1,00 = \text{P} + \text{F} + \text{C} + \text{A}$$

(Equação 4)

Onde P= proteína, F= lipídios, C= carboidratos e A= cinzas.

### **Análise estatística e Análise de dados**

As análises químicas foram realizadas em duplicata, com valores expressos em média  $\pm$  DP, com coeficiente de variação aceitável  $<5\%$ . As análises foram realizadas no Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos, Prof<sup>o</sup> Nonete Barbosa Guerra, Departamento de Nutrição da UFPE.

A variabilidade dos dados experimentais das duplicatas nas análises laboratoriais para composição centesimal, tanto para a análise química quanto a análise elementar, foi expressa e avaliada em média,  $\pm$  dp (desvio padrão), mediana, moda e mínimo-máximo.

O estudo de exatidão de métodos foi delineado partindo de Análise de Variância (ANOVA), Statistic, 2000 e testes de correlação e regressão linear, através do *software Microcal Origin*. Para interpretação dos dados de correlação linear considerou-se valores de  $R^2 < 0,3$  para fraca correlação,  $0,3 \leq R^2 < 0,5$  para boa correlação e  $R^2 \geq 0,5$  para forte correlação.



## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Interferências do método de secagem da amostra na fase pré-analítica nas determinações de análise elementar

A etapa de preparo da amostra para análise elementar pode definir a obtenção de dados mais fidedignos com relação à composição elementar de dietas, uma vez que a umidade residual do processo de secagem da amostra alimentícia pode refletir na composição percentual de hidrogênio e oxigênio. O método proposto por Kumae (2000) recomenda a liofilização como técnica pré-analítica. Esta técnica é dispendiosa, fator que limita a sua aplicação em análises de rotina (SOUTHGAT *et al*, 2002).

Considerando a disponibilidade de equipamento para secagem da amostra em estufa até peso constante, e ainda a facilidade de manuseio da técnica, esta foi testada como procedimento em substituição à técnica de liofilização, no método proposto por Kumae (2000).

As Tabelas 1, 2, 3, 4 e 5 apresentam os resultados obtidos para análise da influência do processo de desidratação sobre resultados de análise elementar.

**Tabela 1.** Composição elementar (%) de dietas dessecadas (n=15).

	%N	%C	%H	%O**
MÉDIA	47,18	7,62	5,10	35,15
DP	1,28	0,86	0,98	2,32
CV	2,71	11,30	19,20	6,60
MIN	43,57	4,80	3,66	29,19
MAX	49,01	9,00	7,31	39,74
MEDIANA	47,54	7,50	5,02	35,43

\*\* Dados obtidos com oxigênio por diferença onde,  $O = 100 - (A+C+N+H)$

**Tabela 2.** Composição elementar (%) obtida em dietas liofilizadas (n=40).

	%N	%C	%H	%O**
MÉDIA	4,92	45,67	10,34	34,78
DP	0,96	2,11	4,27	3,73
CV	19,57	4,62	41,31	10,74
MIN	3,07	35,08	4,48	24,67
MAX	6,76	50,69	32,11	49,85
MEDIANA	4,98	45,92	9,23	35,17

\*\* Dados obtidos com oxigênio por diferença onde,  $O = 100 - (A + C + N + H)$

Relacionando a composição elementar das dietas obtidas por análise elementar pelos diferentes métodos de secagem, observa-se uma variabilidade demonstrada na determinação do percentual de hidrogênio em amostras dessecadas (n=15) a 105°C com CV=19,20% (Tabela 1). A mesma tendência ocorreu para as amostras liofilizadas (n=40), independente da amostragem, conforme observado na Tabela 2, cuja variabilidade atingiu aproximadamente 40%.

As Tabelas 3 e 4 demonstram os resultados de composição química para dietas dessecadas e dietas liofilizadas respectivamente. Nestas, verifica-se a variabilidade existente na composição de macronutrientes a partir da aplicação das equações preditivas propostas por Kumae (2000). Observa-se que para lipídeos e carboidratos apresenta-se uma ampla faixa para os resultados de mínimo e máximo para ambas as técnicas de desidratação da amostra e CV muito elevados.

**Tabela 3.** Composição química (g%) obtida por análise elementar em dietas dessecadas (n=15).

	CINZAS	PROTEINA	GORDURA	CARBOIDRATO
MÉDIA	4,95	31,90	21,44	43,58
DP	0,81	6,08	9,53	15,90
CV	16,28	19,08	44,43	36,50
MIN	3,60	22,89	6,15	13,58
MAX	6,53	45,71	37,96	91,91
MEDIANA	5,05	31,38	20,19	47,87

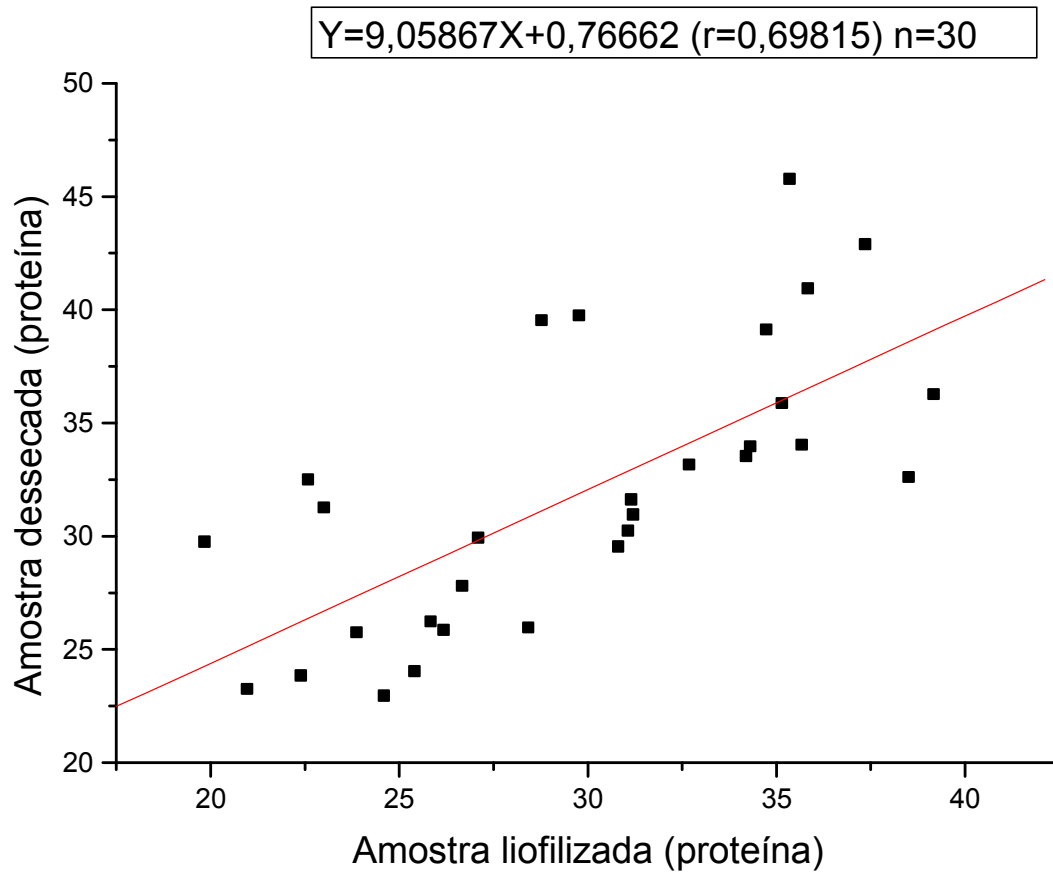
**Tabela 4.** Composição química (g%) de dietas obtidas por análise elementar em dietas liofilizadas (n=40).

	CINZAS	PROTEINA	GORDURA	CARBOIDRATO
MÉDIA	4,98	30,68	41,22	23,56
DP	0,70	6,32	11,20	11,24
CV	14,11	20,61	27,17	47,72
MIN	3,60	19,22	8,52	0,52
MAX	6,53	52,36	62,78	54,84
MEDIANA	4,94	30,99	41,92	23,70

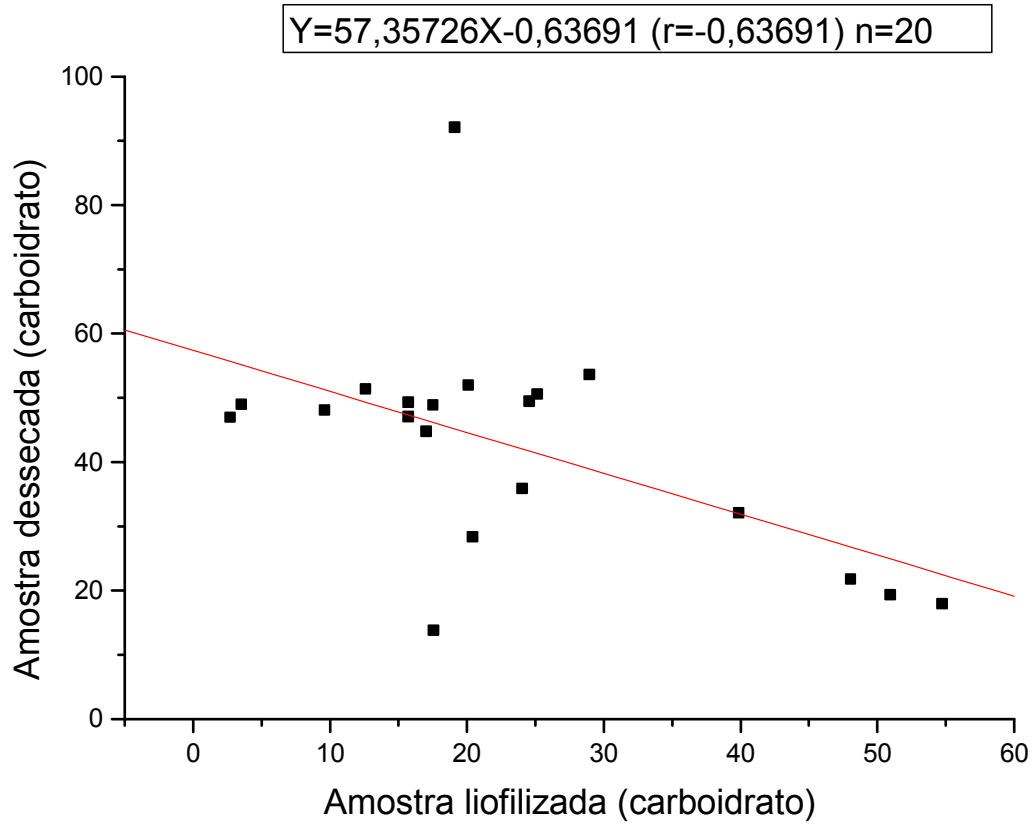
Observa-se boa correlação para a proteína ( $r=0,69815$ ) quando comparados os dois métodos de secagem (Tabela 5 e Figura 1), e fraca correlação para os demais macronutrientes, conforme apresentado nas Figuras 2 e 3.

**Tabela 5.** Correlação linear para composição química de dietas submetidas aos dois métodos de secagem (n=15).

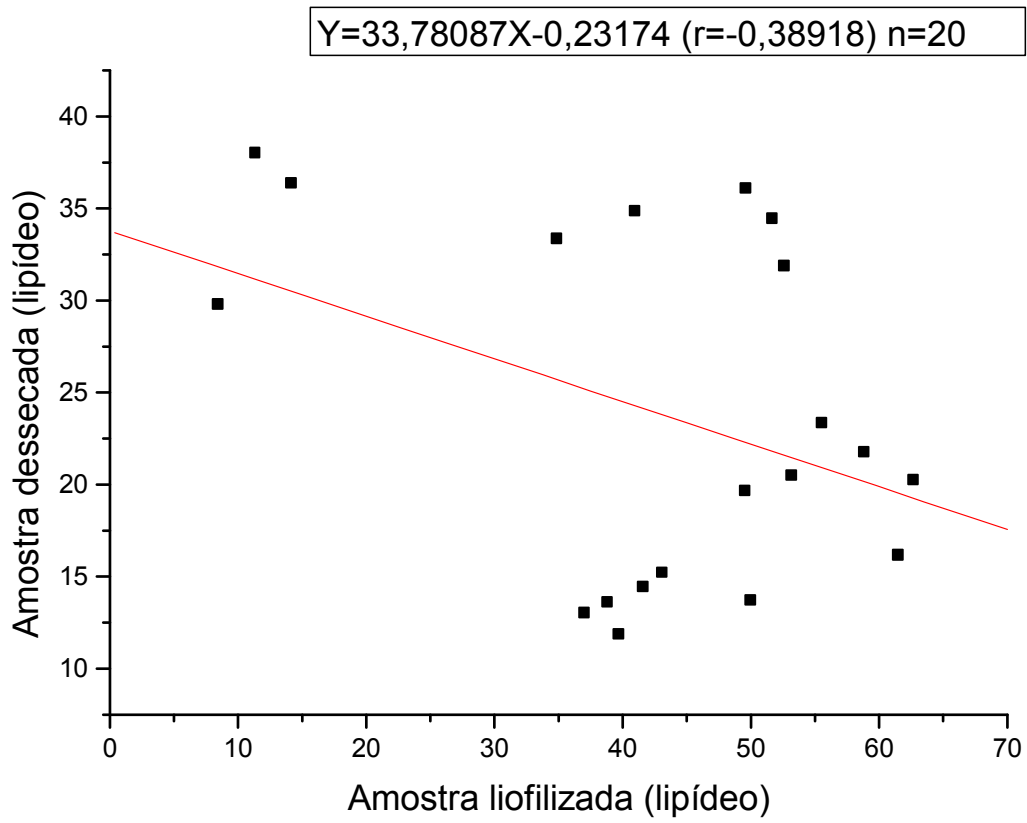
Composto	Equação	r	r <sup>2</sup>	n
Proteína	$Y=9,05867X + 0,76662$	0,69815	0,48738	30
Lipídeo	$Y=33,78087X - 0,23174$	-0,38918	0,15146	20
Carboidrato	$Y=57,35726X - 0,63691$	-0,53123	0,2822	20



**Figura 1.** Correlação linear de percentuais de proteínas em dietas mistas (secagem por liofilização e convencional).



**Figura 2.** Correlação linear de percentuais de carboidratos em dietas mistas (secagem por liofilização e convencional).



**Figura 3.** Correlação linear de percentuais de lipídeos em dietas mistas (secagem por liofilização e convencional).

### Variabilidade intrínseca ao método de análise elementar

Na abordagem do método de análise elementar proposto como alternativo para estimativa de composição química de dietas liofilizadas, a precisão e exatidão de seus resultados foram confrontados por aqueles obtidos por métodos oficiais. Os resultados são apresentados nas Tabelas 4 e 6.

As amostras demonstraram uma ampla faixa de resultados para os macronutrientes avaliados através de métodos oficiais: gordura total (1,65-9,11%), proteína bruta (16,56-35,54%), carboidratos totais (51,12-74,62) quando as dietas foram analisadas por metodologia oficial para os respectivos macronutrientes. (Tabela 6) Esta variabilidade demonstra a dificuldade de padronização de dietas quando avaliadas em sua composição por base de dados obtidos em tabelas de composição de alimentos.

**Tabela 6.** Composição química (g%) de dietas obtidas por métodos oficiais em dietas liofilizadas (n=40).

	CINZAS	PROTEINA	GORDURA	CARBOIDRATO
MÉDIA	4,98	25,93	5,04	64,06
DP	0,70	5,46	2,17	5,76
CV	14,05	21,07	43,08	8,99
MIN	3,56	16,56	1,65	51,12
MAX	6,56	35,54	9,11	74,62
MEDIANA	4,90	26,43	4,42	63,12

Confrontando os resultados obtidos em análise química e elementar para dietas liofilizadas, verifica-se diferença quanto aos resultados obtidos para carboidratos, com médias de 64,06% para análise química e 41,22% para análise elementar, e lipídeos totais com média de 5,04 para análise química e 23,56% para análise elementar especificamente (Tabelas 4 e 6). Estes nutrientes quando obtidos por análise elementar, dependem da composição percentual de carbono, hidrogênio e oxigênio para aplicação nas equações preditivas propostas por

Kumae (2000). Neste trabalho até o presente momento, levantaram-se os dados de oxigênio por diferença.

A variação dos elementos (em mínimo e máximo) das amostras liofilizadas analisadas foi de: N (3,07- 6,76), C (35,08-50,69), H (4,48-32,11), conforme Tabela 2. Destas amostras, exibiram frequência de  $CV > 5\%$  em seus resultados de duplicatas em 32% para análise de hidrogênio com coeficiente de variação médio de 41,31% (Tabela 2), em 22% para nitrogênio e 2,5 % para carbono. Estas variações refletem diretamente os percentuais dos demais elementos, em especial para o oxigênio que é obtido por diferença, demonstrando a influência direta da composição elementar sobre a composição química por análise elementar.

A variabilidade da análise elementar parece estar diretamente relacionada à obtenção de dados percentuais dos elementos, uma vez que a aplicação das equações preditivas propostas para o método de análise elementar estão ligadas à quantificação com baixa variação e conseqüente maior repetibilidade dos dados. Em particular, esta variação deve-se ao fato de levantamento por diferença para obtenção do oxigênio.



## Estudo de exatidão de métodos na estimativa de composição química de dietas mistas

As concentrações de gordura, proteína e carboidratos obtidas em 40 amostras liofilizadas analisadas em duplicatas por métodos oficiais foram comparadas com os valores estimados pelo método proposto de análise elementar através de testes de correlação linear demonstrados na Tabela 7 e Figuras 4, 5, 6 e 7.

Este estudo demonstrou uma fraca correlação entre os métodos oficiais e a análise elementar para lipídeos totais e carboidratos em contraposição aos resultados apresentados por Kumae (2000; 2001) com  $R < 0,5$ , conforme apresentado na tabela 7. Ao considerar a composição de lipídeos totais pelo método de análise elementar como composição média dos ácidos graxos, desconsidera-se a fração bruta presente no extrato etéreo quando a gordura total é obtida por Soxhlet, acarretando assim superestimação quanto à composição lipídica através da análise elementar, além de desconsiderar a provável influência da alta complexidade da amostra nas determinações químicas (KUMAE, 2001, AOAC, 2002).

Como mostrado nas Figuras 4 e 5, uma correlação forte entre os dois métodos foi observada para proteína ( $r=0,82907$ ) assim como para o N-total ( $r=0,90745$ ). Provavelmente isto se deve a ambos os métodos aplicarem o nitrogênio total como preditivo de composição protéica em alimentos e dietas e ainda devido o quimismo do Kjeldahl ser mais pontual para determinação de N (ROHALY, 2008).

**Tabela 7.** Correlação linear para composição química de dietas liofilizadas submetidas análise elementar (n=15)

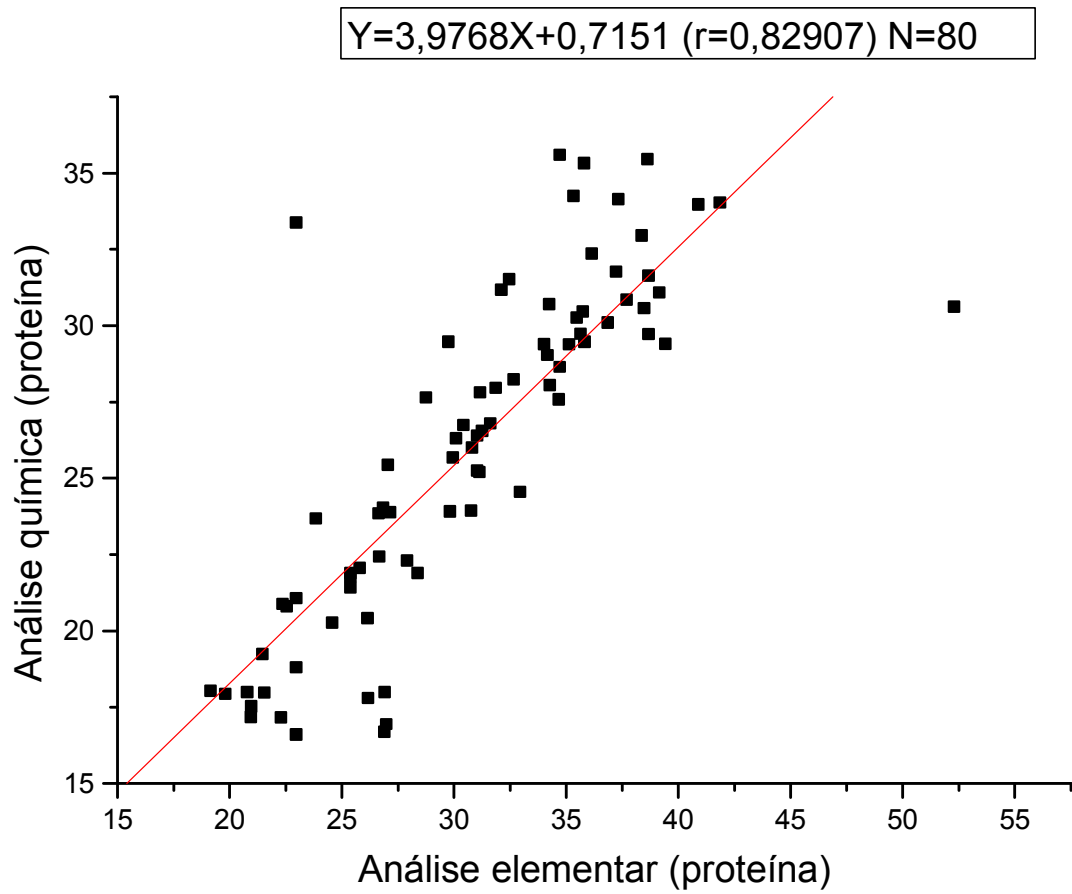
Composto	Equação	r	r <sup>2</sup>	n
Proteína	$Y=3,9768X + 0,7151$	0,82907	0,6874	80
Lipídeo	$Y=5,0861X + 0,0054$	0,02805	0,0007	63
Carboidrato	$Y=62,6409X + 0,0723$	0,1382	0,0191	63
N-total	$Y=0,05429X + 0,8329$	0,90745	0,8235	80

A extração contínua com éter etílico como solvente também pode ser um limitante para confronto fidedigno de resultados, uma vez que a relação solvente e tempo de extração *versus* a complexidade da matriz a ser analisada influencia diretamente a obtenção do extrato para a composição da fração lipídica, mesmo que este seja o solvente com extração em tempo médio (de 4 horas) mais recomendado pelo método oficial da AOAC (AOAC, 2000; IAL, 2008).

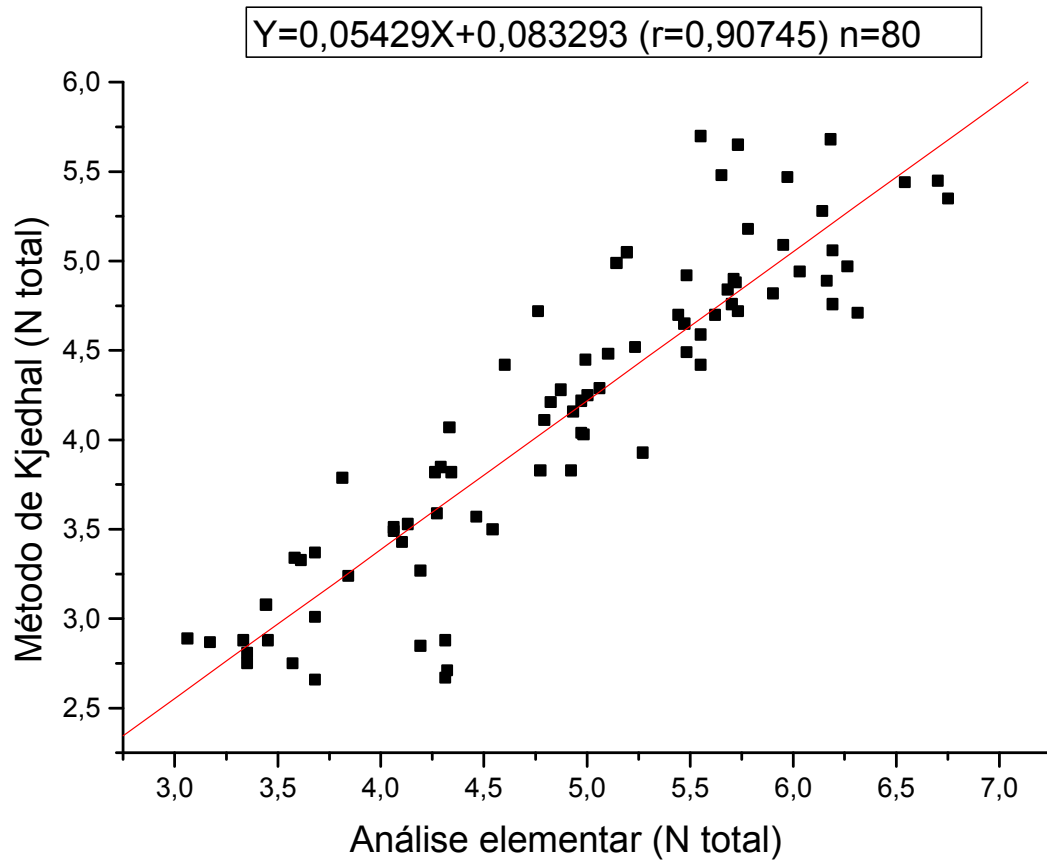
Resultados insatisfatórios foram obtidos para lipídeos e carboidratos (Tabela 7), inferindo direta participação da composição elementar de hidrogênio e carbono, onde estes elementos apresentaram maiores variações, entre as duplicatas (Tabela 2). Em algumas amostras nesse estudo não foram possíveis demonstrar resultados, reduzindo-se a amostragem para n=63 para lipídeos e carboidratos, onde apresentaram resultados negativos ou inexistentes. Este mesmo fato foi observado por Kumae (2000), quando foram avaliadas 120 amostras e apenas 40 dados foram utilizados para estudo de correlação, porém não havendo, porém, qualquer justificativa para o ocorrido. A determinação de oxigênio por diferença ou ainda a alta complexidade da amostra estudada, implicou na geração de dúvidas quanto a variabilidade intrínseca ao método, obviamente repercutindo de modo negativo no estudo de correlação.

A obtenção da composição elementar de oxigênio por diferença pode levar a erros quanto a composição de lipídeos (75,7C; 12,4H; 11,9O) e carboidratos (44,5C; 6,2H; 49,3O) pelo método de análise elementar, uma vez que estes estão diretamente relacionados a esta medida. A análise direta do percentual de oxigênio pode inferir dados mais fidedignos a fim de estudo de exatidão entre os métodos em questão, elucidando a influência direta deste elemento nas equações preditivas avaliadas.

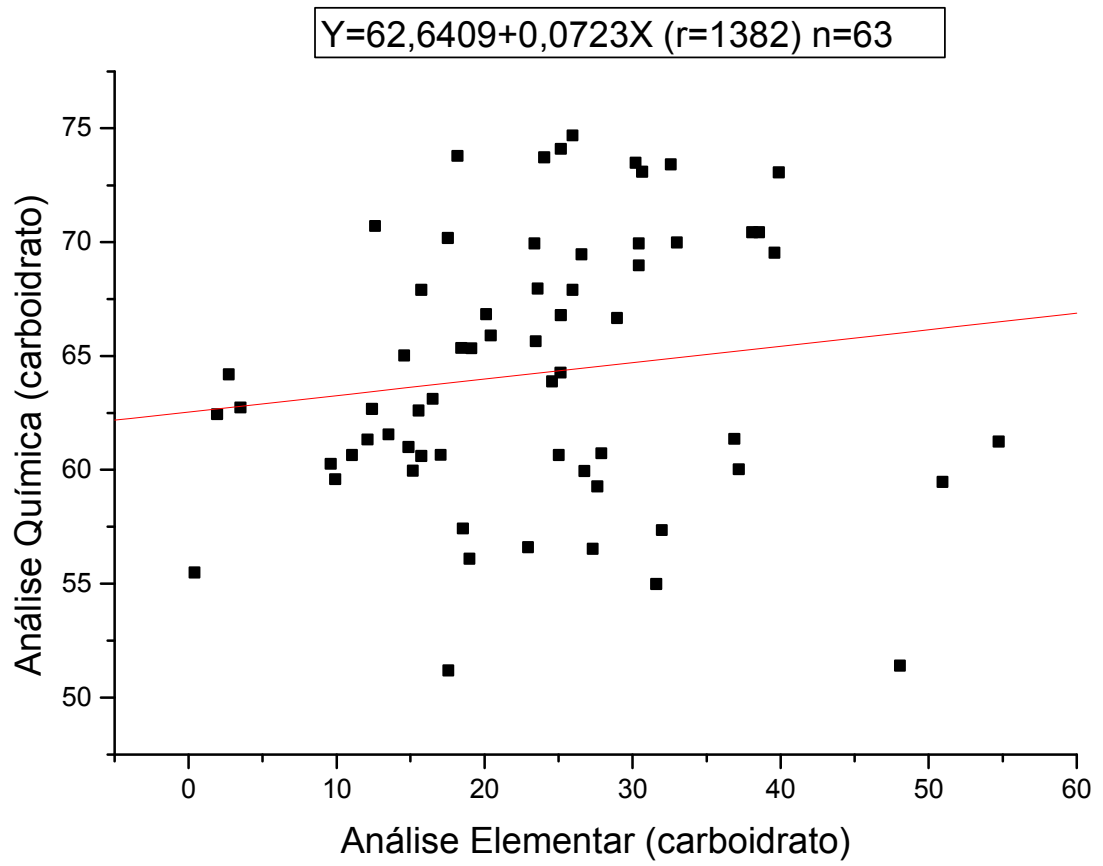
Os resultados apontados neste estudo para carboidratos e lipídeos em dietas mistas merecem maior refinamento metodológico da própria análise elementar com vistas aos propósitos iniciais deste trabalho.



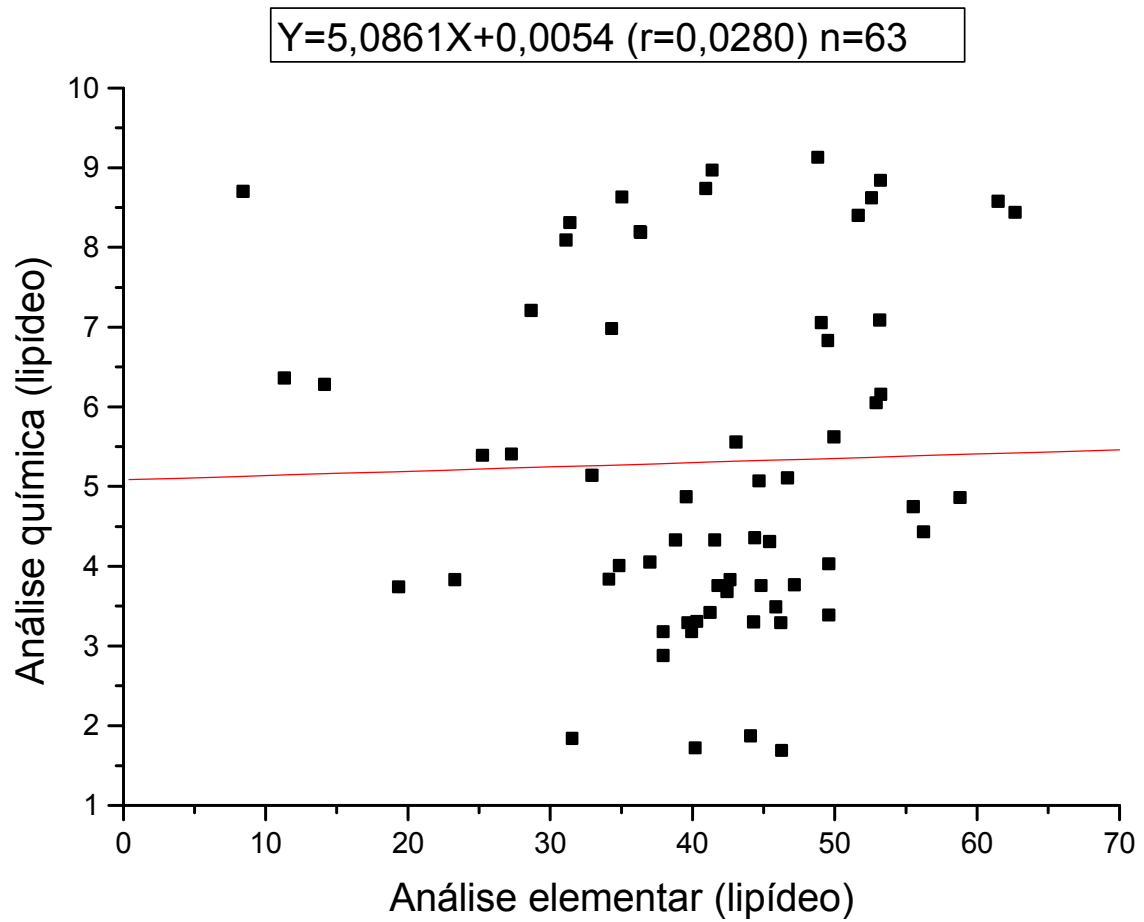
**Figura 4.** Correlação linear de percentuais de proteínas em dietas mistas (análise elementar e análise química).



**Figura 5.** Correlação linear de percentuais de N-total em dietas mistas (análise elementar e análise química).



**Figura 6.** Correlação linear de percentuais de carboidratos em dietas mistas (análise elementar e análise química).



**Figura 7.** Correlação linear de percentuais de lipídeos em dietas mistas (análise elementar e análise química).

## CONCLUSÕES

Os resultados desta pesquisa, na forma como foi conduzida, permitem concluir que:

1. Não foi constatada interferência do método de secagem da amostra (liofilização e estufa), na fase pré-analítica, sobre os resultados de análise elementar, em particular nas determinações de N-total e de proteína;
2. A variabilidade intrínseca relativa ao método e foi notadamente maior na análise elementar quando comparado aos métodos químicos empregados. A variabilidade da análise elementar demonstrou ser influenciada principalmente pelos percentuais de C e H;
3. A exatidão dos resultados obtidos por meio do método de análise elementar mostrou-se adequada (correlação forte) para determinações de N-total e proteínas, em relação aos métodos oficiais. O mesmo não ocorrendo para carboidratos e lipídeos (correlação fraca).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANONIMOUS. **Instruction Manual EA1110 Elemental Analyzer**. Italy: CE INSTRUMENTS, 1997.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of analysis**. 16<sup>o</sup>ed. Washington D.C., 2002.

DENNIS, M.J. HEATON, K., RHODES, C. et al. Investigation into the use of pyrolysis-elemental analysis for the measurement of carbohydrates in foodstuffs. **Analytica Chimica Acta**, 555, p.175-180, 2006.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ . **Métodos físico-químicos para análise de alimentos** /coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea, São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

KUMAE, T. Application of a new simple method for estimating the amount of protein, fat, and carbohydrate in cooked foods consumed in one day. **Nutrition Research**, 21, 517-529, 2001

KUMAE, T. Development of a new simple estimating method for protein, fat, and carbohydrate in cooked foods. **Environmental Helth and Preventive Medicine**, V.4, n<sup>o</sup>4, p.205-211, 2000.

MAIHARA V.A. SILVA, M.G. BALDINI, V.L. S. ET AL. Avaliação Nutricional de Dietas de Trabalhadores em Relação a Proteínas, Lipídeos, Carboidratos, Fibras Alimentares e Vitaminas. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.26, n.3, p. 672-677, 2006.

PENNINGTON, J.A.T., STUMBO, P.J., MURPHY, S.P., et al. Food composition data: the foundation of dietetic practice and research. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.107, n. 12, p.2105-2109, 2007.



RIBEIRO, P., MORAIS, T.B., COLUGNATI, F.A.B., *et al.* Tabelas de composição química de alimentos: análise comparativa com resultados laboratoriais. **Revista de Saúde Pública**, v.37, n.2, p.216-225, 2003.

ROHALY, S. J., MITCHELL, J. C. **Elemental analyzer's combustion furnace for detecting e.g. carbon in organic sample, has reagent tube including locking cap with gas outlet sealably coupled to reagent tube and removably positioned within combustion tube.** Patent number (s) US2007172391-A1; JP2007212452-A; US7497991-B2. 2008.

SALAY, E. (Org.) **Composição de Alimentos: uma abordagem multidisciplinar.** Campinas:Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação, 2005.

SOUTHGATE, D.A. Data quality in sampling, analysis and compilation. **Journal of Food Composition and Analysis**. v.15, n. 4, p.507-513, 2002.

TORRES, E.A.F.S., CAMPOS, N.C., DUARTE, M. Composição centesimal e valor calórico de alimentos de origem animal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.20, n.2, p.308-313, 2002.

ZUZANNE, M. ZIMMERMAN, T.P., HULL, S.G. Development of food composition databases for food frequency questionnaires. **Journal of Food Composition and Analysis**. v.21, n. 1, p.20-26, 2008.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

A análise elementar é uma nova alternativa para a estimativa rápida da composição química de alimentos e dietas apresentando inúmeras vantagens como rapidez, simplicidade, custo e mão-de-obra reduzidos, porém necessita de mais estudos para elucidação de variabilidade intrínseca a técnica proposta através de estudo de exatidão de métodos.

A aplicação das equações preditivas relaciona-se diretamente com a obtenção da composição elementar da matriz estudada, fazendo-se necessários estudos mais controlados, com amostras alimentícias mais simples como padrões analíticos, e fontes específicas de determinados macronutrientes como, por exemplo, carnes, feijões e demais grãos *in natura* e processados.

A análise direta da composição de oxigênio poderá trazer ao estudo de exatidão do método elucidações quanto à baixa correlação encontrada particularmente para carboidratos e lipídeos, neste estudo, uma vez que a composição elementar influencia a aplicação das equações preditivas.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANONIMOUS. **Instruction Manual EA1110 Elemental Analyzer**. Italy: CE INSTRUMENTS, 1997.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of analysis**. 16<sup>o</sup>ed. Washington D.C., 2002.

AUGUSTIN, J. Vitamin analysis. En: Nielsen SS. **Introduction to the chemical analysis of foods**. New York: Chapman & Hall, 1994. p.249-60.

BUCHHOLZ, A.C, SCHOELLER, D.A. Is a calorie a calorie? **American Journal Clinical Nutrition**, v.79 Suppl, p.899-906, 2004

CARPENTER, K.J. A short history of nutritional science: Part 1 (1785–1885). **Journal Nutrition**,v.133, p.638–45, 2003.

CECCHI, H.M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. 2<sup>o</sup>ed, Campinas: Editora da UNICAMP, 2003.

CHANAMAI, R., McCLEMENTS, D.J., Ultrasonic determination of chicken composition. **Journal of Agriculture and Food Chemical**, 47, p.4686-4692, 1999.

CHURCH, S.M. The history of food composition databases. **Nutr Bull**, v.31, p.15-20, 2006.

Conferencia Eletronica sobre avaliação de dados para base de dados e tabelas de composição química de alimentos. p.1-6, 2004. <http://www.rlc.fao.org/Foro/latinfoods/default-por.htm>

DENNIS, M.J. HEATON, K., RHODES, C. et al. Investigation into the use of pyrolysis-elemental analysis for the measurement of carbohydrates in foodstuffs. **Analytica Chimica Acta**, 555, p.175-180, 2006.

DWYER, J.T. Future directions in food composition studies. **Journal of Nutrition**, v.124, Suppl., p.1783-88S. 1994

EWING, G.W. **Métodos instrumentais de análise química**. V.1 São Paulo: Edgard Blucher, 1972.

FERREIRA, M.W., BRESSAN, M.C. , SOUZA X. R. de. Efeito dos métodos de cocção sobre a composição química e perfil lipídico de filés de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus 1757). **Ciência e agrotecnologia**, v. 31, n. 3, p.798-803, 2007.

FELLOWS, P.J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos: Princípios e Práticas**. 2º Ed. Porto Alegre: 2006.

GIANGIACOMO, R., CATTANEO, T.M.P. Applications to foodstuffs: dairy products. **Near-infrared spectroscopy in food science and technology**, p.323-340, 2007.

GOMES, F.P. **Curso de Estatística Experimental**. 11ªed. Piracicaba: Nobel, 1985.

GREENFIELD, H., SOUTHGAT, D.A.T. **Dados de composición de alimentos: obtención, gestión y actualización**. FAO, 2006

GUIMARÃES C.P., LANFER MARQUEZ, U.M. Composição química de tabletes de caldo de carne: nitrogênio protéico, não-protéico e fenilalanina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.22, n.3, p.308-313, 2002.

GUINTINI, E.B. LAJOLO, F.M., MENEZES, E.W. Composição de alimentos: um pouco de historia. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.56, n.3, p.295-303, 2006.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos** /coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea, São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

KHODABUX, K., L'OMELETTE, M.S.S., JHAUMEER-LAULLOO, S. *et al.* Chemical and near-infrared determination of moisture, fat and protein in tuna fishes. **Food Chemistry**, v. 102, p.669-675, 2007.

KIM, Y., SINGH, M., KAYS, S.E. Near-infrared spectroscopy for measurement of total dietary fiber in homogenized meals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 54, p.292-298, 2006.

KIM, Y., SINGH, M., KAYS, S.E. Near-infrared spectroscopic analysis of macronutrients and energy in homogenized meals. **Food Chemistry**, v.105, p.1248-1255, 2007.

KOIVISTOINEN, P.E. Introduction: the early history of food composition analysis – source of artifacts until now. **Food Chemistry**, v.57, n.1, p.5-6. 1996

KUMAE, T. Application of a new simple method for estimating the amount of protein, fat, and carbohydrate in cooked foods consumed in one day. **Nutrition Research**, 21, 517-529, 2001

KUMAE, T. Development of a new simple estimating method for protein, fat, and carbohydrate in cooked foods. **Environmental Health and Preventive Medicine**, V.4, n°4, p.205-211, 2000.

MAIHARA V.A. SILVA, M.G. BALDINI, V.L. S. ET AL. Avaliação Nutricional de Dietas de Trabalhadores em Relação a Proteínas, Lipídeos, Carboidratos, Fibras Alimentares e Vitaminas. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.26, n.3, p. 672-677, 2006.

McCLEMENTS, D.J. Ultrasonic characterization of foods and drinks: principles, methods, and applications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 37, n°1, p.1-46, 1997.

MORGANO, M.A., FARIA, C.G., FERRÃO, M.F., *et al.* Determinação de proteína em café cru por espectroscopia NIR e regressão PLS. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.1, p.25-31, 2005.

MORGANO, M.A., FARIA, C.G., FERRÃO, M.F., *et al.* Determinação de açúcar total em café cru por espectroscopia no infravermelho próximo e regressão por mínimos quadrados parciais. **Química Nova**, v.30, n.2, p.346-350, 2007.

MORGANO, M.A., FARIA, C.G., FERRÃO, M.F. Determinação de umidade em café cru usando espectroscopia NIR e regressão linear multivariada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, n.1, p.12-17, 2008.

MOROS, J., INON, F.A., KHANMOHAMMADI, M. et al. Evolution of the application of attenuated total reflectance-Fourier transform infrared spectrometry (ATR-FTIR) and chemometrics to the determination of nutritional parameters of yogurt samples. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v.328, n.4, p.708-715, 2006.

MOROS, J., GARRIGUES,S., GRADIA, M, de la, Evolution of nutrition parameters in infant formulas and powdered milk by Raman spectroscopy. **Analytica Chimica Acta**, v.593, p.30-38, 2007.

MULET, A., BENEDITO, J., BON, J. et al. Low intensity ultrasonics in the food technology. **Food Science and Technology International**, v.5, n.4, p.285-297, 1999.

MULET, A., BENEDITO, J., GOLAS, J. et al. Noninvasive ultrasonic measurements in the food industry. **Food Reviews International**, v.18, n.2-3, p.123-133, 2002.

PENNINGTON, J.A.T., STUMBO, P.J., MURPHY, S.P., et al. Food composition data: the foundation of dietetic practice and research. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.107, n. 12, p.2105-2109, 2007.

POMERANZ, Y., MELOAN, C.E. **Food analysis: theory and practice**. 3º ed. Maryland: Aspen Publishers, 2000.

PONSANO, E.H.G., PERRI, S.H.V., MADUREIRA, F.C.P., et al. Correlação entre métodos tradicionais e espectroscopia de ultra-som na determinação de características físico-químicas do leite. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.29, n.4, p.1052-1057, 2007.

RAND, W.M., WINDHAM, C.T., WYSE, B.W. *et al.* **Food composition data: a user's perspective**. Japan: United Nations University, 1997.

RIBEIRO, P., MORAIS, T.B., COLUGNATI, F.A.B., *et al.* Tabelas de composição química de alimentos: análise comparativa com resultados laboratoriais. **Revista de Saúde Pública**, v.37, n.2, p.216-225, 2003.

ROHALY, S. J., MITCHELL, J. C. **Elemental analyzer's combustion furnace for detecting e.g. carbon in organic sample, has reagent tube including locking cap with gas outlet sealably coupled to reagent tube and removably positioned within combustion tube.** Patent number (s) US2007172391-A1; JP2007212452-A; US7497991-B2. 2008.

SAGGIN, R., COUPLAND, J.N. Non-contact ultrasonic measurements in foods materials. **Food Research International**, 34, p.865-870, 2001.

SALAY, E. (Org.) **Composição de Alimentos: uma abordagem multidisciplinar.** Campinas: Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação, 2005.

SAVAGE, G. Experimental chemists: the founders of nutrition. **Nutrition Today**, p.24-29. 1992

SILVA, D.C., QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos.** 3<sup>o</sup>ed. Viçosa, UFV, 2006.

SOARES, L.V. **Curso básico de instrumentação para analistas de alimentos e fármacos.** Barueri: Manole, 2006.

SOHN, M., HIMMELSBACH, D.S., KAYS, S.E., ET AL. NIR-FT/Raman spectroscopy for nutritional classification of cereal foods. **Cereal Chemistry**, v.82, n.6, p.660-665, 2005.

SOUTHGATE, D.A. Data quality in sampling, analysis and compilation. **Journal of Food Composition and Analysis**. v.15, n. 4, p.507-513, 2002.

SOUTHGATE, D.A.T., DURNIN, J.V. Calorie conversion factors. An experimental reassessment of the factors used in the calculation of the energy value of human diets. **Brasilian Journal Nutrition**, v.24, n.2, p.517-35, 1970.

TAROUCO, J.U., LOBATO, J.F.P., TAROUCO, A.K., *et al.* Comparação entre medidas ultra-sônicas e da carcaça na predição da composição corporal em bovinos. Estimativa do peso e da porcentagem dos cortes comerciais do traseiro. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.6, p.2092-2101, 2007 (supl.).

TAROUCO, J.U., LOBATO, J.F.P., TAROUCO, A.K., *et al.* Relação entre medidas ultra-sônicas e espessura de gordura subcutânea ou área de olho de lombo na carcaça em bovinos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.4, n.6, p.2074-2084, 2005.

TORRES, E.A.F.S., CAMPOS, N.C., DUARTE, M. Composição centesimal e valor calórico de alimentos de origem animal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.20, n.2, p.308-313, 2002.

VENTUROSO, R.C., ALMEIDA, K.E. de, RODRIGUES, A.M., *et al.* Determinação da composição físico-química de produtos lácteos: estudo exploratório de composição dos resultados obtidos por metodologia oficial e por ultra-som. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.43, n. 4, p.607-613, 2007.

VIEIRA, J.O.e, BRESSAN, M.C., FARIA, P. B. *et al* . Efeito dos métodos de cocção na composição centesimal e colesterol do peito de frangos de diferentes linhagens. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 1, p. 164-170, 2007.

ZUZANNE, M. ZIMMERMAN, T.P., HULL, S.G. Development of food composition databases for food frequency questionnaires. **Journal of Food Composition and Analysis**. v.21, n. 1, p.20-26, 2008.



# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)