



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS**  
**CAMPUS JATAÍ**  
**CURSO DE ZOOTECNIA**  
**RELATÓRIO DE ESTÁGIO CURRICULAR OBRIGATÓRIO**

**AMANDA ALVES VALENTE**

**ANÁLISES DE ALIMENTOS**

**JATAÍ-GO**  
**2011**

**AMANDA ALVES VALENTE**

**ANÁLISES DE ALIMENTOS**

Relatório Final de Estágio Curricular  
Obrigatório Apresentado ao Colegiado do  
Curso de Zootecnia, como parte das  
exigências para a obtenção do título de  
Bacharel em Zootecnia.

---

Orientadora

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Marcia Dias

---

Supervisor

Dr. Carlos Henrique Hoff Brait

JATAÍ-GO

2011

**AMANDA ALVES VALENTE**

Relatório de estágio curricular obrigatório para conclusão curso de graduação em zootecnia defendido e aprovado em 06/12/2011, pela seguinte banca examinadora:

---

Profª Drª Marcia Dias Presidente da Banca

---

Dr. Carlos Henrique Hoff Brait Membro da Banca

---

Profª Drª Ana Luisa Aguiar de Castro Membro da Banca

## AGRADECIMENTOS

À Deus, que é o único digno de honra e exaltação, que me sustenta com sua destra fiel.

Aos meus pais Rosa Luiza Alves e Nilson José Valente, pelo incentivo e apoio nos momentos bons e ruins e que não mediram esforços para garantir o meu sustento até aqui.

À minha orientadora Marcia Dias, pelo apoio, paciência e disponibilidade de tempo e pela excelência no ensino.

Às minhas irmãs Priscila Alves e Cintia Epfânia, pela tolerância nos momentos de estresse e pela ajuda concedida.

Ao meu namorado Marcos Pereira pelo carinho e compreensão nos dias de estudo.

À todos os que foram meus professores durante o curso de Zootecnia e ao coordenador de estágio Fernando Dias pela disposição em ajudar na realização deste estágio.

Ao meu supervisor de estágio Carlos Henrique Hoff Brait, por permitir a realização do estágio em sua empresa e a todos analistas e amigos do Laboratório EXATA.

À todos aqueles que me fizeram chorar, me ajudando a ser forte e persistente nos meus sonhos, eu só tenho a dizer “Muito Obrigado”!

“Não é assim entre vós; pelo contrário, quem quiser torna-se grande entre vós, será esse que vos sirva; e quem quiser ser o primeiro entre vós será o vosso servo”.

Mateus 20. 26-27

## SUMÁRIO

1. IDENTIFICAÇÃO.....	1
2. LOCAL DE ESTÁGIO .....	2
3. DESCRIÇÃO DA ROTINA E DO CAMPO DE ESTÁGIO.....	3
4. RESUMO QUANTIFICADO DAS ATIVIDADES.....	5
5. DESCRIÇÃO E DISCUSSÃO DE ANÁLISE DE ALIMENTOS.....	6
5.1. Introdução .....	6
5.2. Análises realizadas .....	6
5.2.1. Preparo das amostras e matéria seca .....	6
5.2.2. Determinação da Proteína Bruta pelo Método Kjeldahl .....	9
5.2.3. Determinação da Proteína Bruta pelo Método Dumas.....	10
5.2.4. Determinação da Fibra Bruta.....	12
5.2.5. Determinação da Fibra em Detergente Neutro (FDN).....	13
5.2.6. Determinação da Fibra em Detergente Ácido (FDA).....	14
5.2.7. Análise de Extrato etéreo.....	15
5.2.8. Determinação de Extrato Etéreo via Hidrólise Alcalina .....	16
5.2.9. Determinação da Acidez em óleos e Gorduras .....	17
5.2.10. Índice de saponificação.....	18
5.2.11. Índice de Peróxido .....	20
5.2.12. Sabões.....	21
5.2.13. Determinação da Atividade Ureática.....	22
5.2.14. Acidez em Ácido Láctico .....	23
5.2.15. Determinação da Acidez Alcoólica .....	24
5.2.16. Digestão em Microondas .....	25
5.2.17. Determinação de minerais por via úmida.....	26
5.2.18. Espectrometria de Emissão Atômica por Plasma (ICP-OES).....	27
5.3. Considerações sobre análises de alimentos .....	28
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	30
7. REFERÊNCIAS .....	31

**LISTA DE TABELAS**

TABELA 1 ATIVIDADES DESENVOLVIDAS NO LABORATÓRIO EXATA, JATAÍ - GO, NO PERÍODO DE 25/07/2011 A 03/10/2011 .....	06
TABELA 2 MOINHO E PENEIRA UTILIZADOS EM FUNÇÃO DO TIPO DE AMOSTRA ....	08
TABELA 3 TABELA DE TEMPERATURA DE SECAGEM E TIPO DE MATERIA .....	10
TABELA 4 QUANTIDADE DE AMOSTRA, SOLUÇÃO E TIPO DE SOLUÇÃO ESPECÍFICA PARA O TIPO DE AMOSTRA ANALISADA.....	19
TABELA 5 VALORES DE ÍNDICE DE SAPONIFICAÇÃO DE ALGUMAS GORDURAS .....	20
TABELA 6 QUANTIDADE DE MATERIAL E ÁCIDO PARA DIGESTÃO EM CHAPA.....	27

## **1. IDENTIFICAÇÃO**

Acadêmica: Amanda Alves Valente

Matrícula nº 064770.

Orientadora: Profa. Marcia Dias.

Profa. do Curso de Zootecnia do CAJ/UFG

Supervisor: Dr. Carlos Henrique Hoff Brait.

Engenheiro Químico do Laboratório Exata



## **2. LOCAL DE ESTÁGIO**

O Estágio foi realizado na empresa Hoff & Brait Ltda conhecida comercialmente por Laboratório Exata, localizado na Rua 100, nº 173, Jardim Rio Claro no município de Jataí - GO, no período de 25/07/2011 a 03/10/2011.

A empresa foi escolhida para estagiar por ser idônea, conhecida em toda região do sudoeste goiano e por trabalhar com uma diversidade de análises de alimentos utilizadas para nutrição animal, além de permitir ao aluno um contato direto com a rotina de um laboratório e proporcionar conhecimento prático da teoria aprendida durante o curso de Zootecnia.

### 3. DESCRIÇÃO DA ROTINA E DO CAMPO DE ESTÁGIO

O Laboratório Exata possui sede própria e modernas instalações construídas de acordo com as normas específicas para laboratórios, conta com sala de recepção escritório, setor administrativo, biblioteca, laboratório de análises, salas específicas para preparação de material, sala de pesagem e análise instrumental, além de uma equipe especializada com profissionais treinados para oferecer serviço em análises agroindustriais.

Esta empresa iniciou seu trabalho em 1997 e tem como objetivo suprir a carência na região de uma empresa especializada na área de análises agroindustriais e de oferecer um serviço rápido, confiável e de baixo custo. O Laboratório Exata possui três sócios proprietários e quadro de funcionários com 18 pessoas compreendendo administração, gerência do laboratório, analistas e funcionários do setor de limpeza. São feitas aproximadamente 40.000 análises anualmente, sendo 30.000 de solos, 8.000 de rações, e 2.000 análises de sal mineral, foliar, fertilizantes, corretivos, água, resíduos e metais pesados, atendendo empresas e proprietários rurais do município de Jataí e região.

Inicialmente o estagiário conhece o planejamento da rotina a ser seguida diariamente por cada analista e de acordo com suas rotinas é estabelecido um período de acompanhamento das análises. Esse período é de aproximadamente duas semanas para cada analista e não para cada análise, pois, cada analista realiza duas ou mais análises.

O estagiário acompanha e participa a verificação da calibração de balanças analítica, semi-analíticas e de precisão, assim como de peagâmetro que serão utilizados no decorrer das análises.

A rotina é baseada no número de amostras a serem analisadas no dia, pois o resultado final de todas as análises deve ser entregue no prazo estabelecido pela empresa. Diariamente ao chegar ao laboratório é preciso olhar a numeração das amostras a serem analisadas, depois pegar essas amostras no armário de amostra ou se for o caso, na sala de preparo de ração, e então seguir os passos de acordo com a técnica de cada análise. Antes de cada análise é feito o preparo de soluções, a separação dos reagentes e vidrarias que serão utilizadas, bem como a numeração de identificação das vidrarias.

O estagiário acompanha todas as etapas das análises, sendo que algumas análises começam no período da manhã e terminam somente à tarde ou no dia seguinte. No decorrer das análises todos os dados obtidos são enviados para um programa (Ceres) onde é possível gerar um laudo, observar o resultado final de todas as análises e identificar se houve erros analíticos. Quando ocorre algum erro analítico ou resultado que não está de acordo com os padrões estabelecidos para cada amostra analisada, é feita a repetição da análise para se ter um laudo correto e confiável.

Assim, o estagiário tem a oportunidade de participar efetivamente das análises realizadas pelos analistas, sendo importante profissionalmente, pela experiência do desenvolvimento prático das atividades de cada análise que envolve a nutrição animal. Além do contato com vários alimentos utilizados para a nutrição de bovinos, suínos e aves, obtendo conhecimento da composição nutricional de cada alimento, e da presença de componentes que podem ser tóxicos aos animais, o que permite correlacionar os dados obtidos das análises dos alimentos ao devido processamento dos mesmos.

#### 4. RESUMO QUANTIFICADO DAS ATIVIDADES

Durante o período de estágio a primeira atividade realizada foi a familiarização com a rotina da empresa para depois acompanhar as diversas análises respeitando a rotina de trabalho no laboratório.

Tabela 1. Atividades desenvolvidas no Laboratório Exata, Jataí - GO, no período de 25/07/2011 a 03/10/2011

Área	Atividade <sup>1</sup>	Período		Horas
		Início	Fim	
Geral	Familiarização rotina	25/07	25/07	8
Análises	Extrato Etéreo, IS, Urease, Sabões, Umidade	26/07	05/08	72
Análises	Fibra Bruta, FDN, FDA, Acidez, EE(HA)	08/08	19/08	80
Análises	Digestão em Microondas, PB (Dumas), PB (Kjeldahl)	22/08	02/09	80
Análises	Digestão chapa, Diluição, IP, MM	05/09	16/09	72
Análises	Leitura ICP	20/09	03/10	80
Total				392

<sup>1</sup>IS = Índice de saponificação, FDN = Fibra em Detergente Neutro, FDA = Fibra em Detergente ácido, EE (HA) = Extrato Etéreo via Hidrólise Alcalina, PB = Proteína Bruta, IP = Índice de Peróxido, MM = Matéria Mineral, ICP = Espectrometria de Emissão Atômica por Plasma.

## **5. DESCRIÇÃO E DISCUSSÃO DE ANÁLISE DE ALIMENTOS**

### **5.1. Introdução**

A análise de alimentos tem sido utilizada por pessoas que procuram alta produtividade com a máxima expressão do potencial genético dos animais. Ao formular uma ração e escolher os ingredientes é muito importante que se faça a análise química desse alimento, pois, com base nesta, o zootecnista poderá ter as informações adequadas sobre a composição do alimento bem como sua limitação nutricional, para balancear a ração de acordo com as exigências de cada espécie animal. Assim, é notável a importância da análise química dos diferentes alimentos para a nutrição animal, e é imprescindível que uma análise seja criteriosa na avaliação de cada amostra analisada.

O cuidado no conhecimento acurado do conteúdo químico e energético dos alimentos deve ser redobrado quando se faz uso principalmente de co-produtos de origem animal, devido a pouca padronização desses alimentos, cujos valores nutritivos variam conforme o processamento a que são submetidos e ao tipo e às proporções de seus constituintes (Gomes et al., 2007).

### **5.2. Análises realizadas**

#### **5.2.1. Preparo das amostras e matéria seca**

Para se ter uma análise criteriosa é importante que todas as etapas do processo ocorram de maneira organizada, a começar no envio de amostras para o laboratório. As amostras enviadas ao laboratório devem ser devidamente identificadas contendo principalmente o nome do proprietário, data, identificação do material e análise a ser realizada. Esses procedimentos foram feitos no laboratório Exata. Quando as amostras chegavam era feito o cadastro interno da amostra. Material como silagem, pastagem e material frescos com umidade elevada (>20%) eram mantidos em geladeira a temperatura entre 5 e 8°C.

Outros procedimentos corretos realizados foram o quarteamento e moagem das amostras. Antes das análises a amostra é quarteada em quarteador

de aço inoxidável de oito canais. Depois é reduzida em partículas menores por moagem, a qual tem a função de aumentar a sua superfície de contato com os reagentes durante a análise química e possibilitar a realizar de análises de frações das amostras mais representativas e homogêneas.

Foram utilizados diferentes tipos de moinhos de acordo com o tipo de amostra, sendo eles: moinho de rotor (PRE-MOI-02), moinho multiuso (PRE-MOI-03) e moinho de facas tipo Willye (PRE-MOI-04) para a moagem das amostras (Tabela 2).

**Tabela 2. Moinho e peneira utilizados em função do tipo de amostra**

Material	Moinho	Peneira (Mash)	Nº vezes que é moído	Tempo (s)
Farelo de soja	PRE-MOI-02	30	-	150
Rações	PRE-MOI-02	30	-	150
Milho, Sorgo, Milheto	PRE-MOI-02	20	-	150
Soja	PRE-MOI-03	-	3X	20
Farelo de bolacha	PRE-MOI-03	-	1X	20
Farelo de arroz	PRE-MOI-03	-	1X	20
Farinha pena aves	PRE-MOI-03	-	2X	20
Farinha vísceras aves	PRE-MOI-03	-	2X	20
Farinha vísceras suínos	PRE-MOI-03	-	2X	20
Farinha Carne/Ossos	PRE-MOI-03	-	2X	20
Calcário grosso	PRE-MOI-04	-	2X	15
Pig Plus	PRE-MOI-04	-	5X	15
DPS	PRE-MOI-04	-	1X	20
Silagem/Pastagem	PRE-MOI-04	20	-	-
Folhas	PRE-MOI-04	20	-	-
Caroço de algodão	PRE-MOI-03	-	2X	20
Girassol grãos	PRE-MOI-03	-	3X	20

Fonte: Laboratório EXATA.

Algumas amostras como fertilizantes e sal mineral, que já possuem partículas reduzidas não foram moídas, uma vez que já apresentam granulometria adequada. Após a moagem, uma parte da amostra é colocada em frascos com a numeração do cadastro e são guardadas em armário para a análise química e, outra parte da amostra, é enviada para a análise de umidade, para identificação

do teor de água presente na amostra. Indiretamente, pode-se determinar o teor de matéria seca presente no alimento.

A determinação da matéria seca é a parte mais simples da análise de alimentos e consiste na retirada da água do alimento por meio de secagem em estufa, porém de fundamental importância porque os demais nutrientes são expressos considerando seu valor, ou seja, em base de matéria seca para padronização. Segundo Almeida (2006) a análise da matéria seca é importante, pois, mesmo alimentos aparentemente secos não são absolutamente secos e, além disso, alimentos úmidos e/ou fermentados (pastagens, silagens e alguns resíduos) podem conter uma grande proporção de água que dilui os nutrientes secos no alimento.

O procedimento adotado para determinar umidade consiste na pesagem de cápsulas de alumínio e pesagem de 3 a 5 gramas de amostra em balança semi-analítica, seguido de secagem do conjunto em estufa de ventilação forçada de ar a temperatura conforme o material, por um período de no mínimo 12 horas ou até peso constante (Tabela 3). Após este período a cápsula contendo a amostra seca é colocada no dessecador por 30 minutos e então é feita uma nova pesagem, obtendo a percentagem de matéria seca (%MS) pelo seguinte cálculo:

$$\%MS = [(Peso\ Depois\ (g) - Tara\ da\ cápsula\ (g)) \times 100] / Peso\ da\ amostra\ (g).$$

Para alimentos com umidade acima de 20%, como gramíneas e silagens, foi feita a pré-secagem a temperatura de 65°C até peso constante. De acordo com Silva & Queiroz (2009) esse procedimento é adotado com o intuito de evitar perda por volatilização de outros nutrientes, principalmente compostos nitrogenados, ou danos a proteínas. Após a pré-secagem a amostra retirada da estufa foi colocada em dessecador para equilíbrio da temperatura e em seguida foi pesada. Então, foi feita secagem definitiva sob temperatura de 105°C por no mínimo 16 horas.

Tabela 3. Tabela de temperatura de secagem e tipo de material

Material	Temperatura (°C)
Rações	105
Sais	55
Óleo ou Gordura	65
Material com acima de 20% de umidade	65

### 5.2.2. Determinação da Proteína Bruta pelo Método Kjeldahl

Este método é utilizado para determinar o teor de proteína bruta das amostras por digestão com ácido sulfúrico em presença de catalisador. O método baseia-se em três etapas: digestão, destilação e titulação. O nitrogênio da amostra é transformado em sulfato de amônio por digestão ácida e em nitrogênio amoniacal por destilação em meio alcalino. O nitrogênio é então quantificado por titulação em ácido padronizado e multiplicado pelo fator adequado para transformação para proteína bruta, o que era considerando o valor de 6,38 para produtos lácteos e 6,25 para os demais produtos. Esse valor corresponde à relação do valor médio de nitrogênio presente na proteína dos alimentos, ou seja, 16% (100/16). Entretanto, esse percentual varia conforme o alimento, uma vez que diferentes aminoácidos irão compor uma determinada proteína. Porém, é recomendada a padronização de 6,25 para a comparação entre alimentos.

A digestão foi realizada com ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) e a mistura catalítica utilizada para digestão foi a de sulfato de sódio anidro e sulfato de cobre pentaidratado, o que está de acordo com Silva & Queiroz (2009). A etapa de digestão ocorreu no bloco digestor com a temperatura máxima de 350°C. Foi utilizado o Scrubber para neutralização dos gases a partir da temperatura de 250°C. O processo de digestão terminou com a viragem da cor para verde claro em aproximadamente 5 horas de digestão.

A temperatura correta utilizada durante a digestão é importante, pois temperatura muito elevada pode provocar a perda de compostos nitrogenados por volatilização. Segundo Silva & Queiroz (2009), a digestão é realizada em temperatura próxima a 400°C, porque o ponto de ebulição do ácido sulfúrico é



aumentado pelo sulfato de cobre pentaidratado, resultando em tempo analítico de 2 a 4 horas. Esta etapa é a que demanda maior tempo durante toda análise.

Depois da digestão procede-se a destilação, realizada no Destilador de Nitrogênio TE-036 TECNAL<sup>®</sup>. Na destilação, o sulfato de amônio é tratado com NaOH para que ocorra a liberação da amônia. A amônia liberada foi recebida pela solução de ácido bórico e então foi feita a titulação com solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 N logo após o processo de titulação, concordando com Silva & Queiroz (2009), que indica um período de no máximo duas horas para titular após a destilação, pois a amônia está fracamente ligada ao ácido bórico.

O mesmo procedimento foi adotado para o teste em branco, visando eliminar interferências e contaminação dos reagentes que podem apresentar nitrogênio em sua composição química, mascarando o valor real da concentração de nitrogênio presente na amostra.

$$\text{Proteína Bruta\%} = (V_a - V_b) \times N \times 6,25 \times 0,014 \times 100 / P$$

Onde: V<sub>a</sub> = volume de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 N gasto na titulação (mL); V<sub>b</sub>= volume de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 N gasto na prova em branco (mL); N = Normalidade padronizada; 6,25 = fator de transformação de nitrogênio em proteína; 0,014 = miliequivalente grama de nitrogênio; P = massa da amostra (g).

### 5.2.3. Determinação da Proteína Bruta pelo Método Dumas

O método Dumas consiste na queima completa da matéria orgânica em uma temperatura que pode variar de 700 a 750°C utilizando como catalizador o óxido cúprico na presença de oxigênio (Ribeiro, 2008). Segundo Lopes & Santana (2005), todo nitrogênio orgânico como inorgânico são transformados em gases de óxido nítrico (NO<sub>2</sub>) sendo posteriormente reduzidos a gás nitrogênio (N<sub>2</sub>), que liberado, é determinado através da condutividade térmica. Alguns autores tem observado valores inferiores de nitrogênio na metodologia de Kjeldahl em relação a metodologia de Dumas.

Outros métodos que poderiam ser utilizados são: Determinação de proteína Bruta na região do Infravermelho Proximal (NIRS) e por espectroscopia em Ultravioleta.

O método NIRS muito eficiente, em que não há destruição da amostra e nem utilização de reagentes, permite estimar o teor de N total bem como a composição aminoacídica da proteína, baseado na espectrofotometria de reflectância no infravermelho proximal, porém possui um alto custo inicial (Lopes & Santana, 2005), além de ser um método secundário sendo necessário a utilização de padrões de alto custo, e verificação correta das curvas de calibração.

De acordo com Lopes & Santana (2005), a espectroscopia em Ultravioleta se baseia no fato dos grupos funcionais absorverem luz ultravioleta e, portanto, suas concentrações podem ser medidas por espectrofotometria, porém pode haver interferência de outras substâncias presentes na amostra.

A determinação de nitrogênio por combustão se deu com base no método da AOAC 99.03 e 992.15 (2007). Utilizou-se o analisador de nitrogênio Perkin Elmer 2410 Series II<sup>®</sup> o qual possui a capacidade de analisar uma amostra em quatro minutos. Foram pesados 0,60 a 0,100 g de amostra dentro de uma cápsula de estanho a qual foi colocada no equipamento e, então, sofreu digestão oxidativa com oxigênio puro (900 a 1200°C). O nitrogênio formado foi medido por um detector de condutividade térmica. A quantidade de nitrogênio foi multiplicada por um fator de correção (6,25) para conversão em PB.

Esta metodologia foi utilizada devido a capacidade que se tem de analisar uma grande quantidade de amostra em um curto período de tempo, além de não utilizar reagentes perigosos como a metodologia de Kjeldahl e trabalhar com uma pequena quantidade de amostra. Porém, a metodologia de Dumas pode superestimar os valores de nitrogênio principalmente de alimentos de origem vegetal, devido a maior concentração de nitrogênio na forma inorgânica, pois esta metodologia considera todas as formas de nitrogênio presentes na amostra e não somente o nitrogênio orgânico. Por isso durante o estágio, foi utilizada também a metodologia de Kjeldahl para amostras de forragens.

#### 5.2.4. Determinação da Fibra Bruta

Fibra Bruta é a parte dos carboidratos resistente ao tratamento sucessivo com ácido e base diluídos, representando a grande fração fibrosa dos alimentos (Silva & Queiroz, 2009). Esta análise é utilizada no laboratório para produtos e co-produtos de origem vegetal, forrageiras, rações e concentrados.

A análise da fibra bruta foi feita com o tratamento sucessivo da amostra contida em saquinho de tecido não tecido (TNT; 100 g/m<sup>2</sup>) com ácido sulfúrico 1,25% e hidróxido de sódio 1,25% diluídos a quente.

A fibra bruta é representada pela fração que contém celulose, hemicelulose, lignina e suberina (cera) dos ingredientes. Para análise utilizou-se o Determinador de Fibra TE-149 da marca TECNAL<sup>®</sup> que permite analisar 30 amostras simultaneamente.

O procedimento utilizado para esta análise está de acordo com o descrito por Silva & Queiroz (2009), porém o mesmo não foi seguido na íntegra devido ao fato de se ter usado um determinador de fibra muito eficiente e de alta tecnologia, que permitiu pesar menor quantidade de amostra, com maior agilidade e facilidade do procedimento.

Foram pesados 0,350 gramas de amostras em saquinhos previamente tarados e identificados com lápis, em seguida foi feita a hidratação da amostra, que é uma técnica utilizada para evitar a formação de grumos durante a digestão, para se ter um digestão homogênea de toda amostra. Depois amostra hidratada foi colocada no determinador de fibra, com dois litros de solução ácida (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) por 30 minutos. Essa extração ácida remove amidos, açúcares e parte da pectina e hemicelulose dos alimentos (Neumann, 2002). Após extração ácida, realizou-se cinco lavagens água deionizada, e então foi feita a segunda extração com dois litros de solução básica (NaOH) por 30 minutos. A extração com NaOH tem como objetivo retirar as proteína, pectinas, hemicelulose restante e parte da lignina (Mertens, 1992). Após extração, foi feita a lavagem com água deionizada e posteriormente ao processo de digestão, os saquinhos contendo o resíduo foram lavados com acetona e deixados sob papel absorvente até estarem bem secos para serem colocados em estufa de circulação de ar a 105°C por 4 horas.

Como nesta análise ocorre a extração de parte da hemicelulose, esta não é recomendada para alimentos de ruminantes, pois, eles aproveitam também a hemicelulose por meio da microbiota ruminal sendo necessário uma análise mais criteriosa como a da fibra em detergente neutro e ácido.

O valor da fibra bruta foi obtido pelo cálculo:

$$\% \text{ FB} = (\text{PD} - \text{Tara}) \times 100 / \text{PA}$$

Onde: %FB = percentagem de fibra bruta do alimento; PD = peso do saquinho + amostra (g); Tara = peso do saquinho vazio (g); PA = peso da amostra (g).

#### **5.2.5. Determinação da Fibra em Detergente Neutro (FDN)**

A fibra em detergente neutro (FDN) é um resíduo fibroso composto por celulose, hemicelulose e lignina que são os principais componentes da parede celular das plantas (Silva & Queiroz, 2009). Tem sido relacionada à regulação da ingestão de alimentos, taxa de passagem e atividade mastigatória dos ruminantes (Cardoso et al., 2006).

Para a análise de FDN foram pesados 0,350 g de amostra em saquinho de tecido não tecido (TNT, 100 g/m<sup>2</sup>) previamente tarado, em seguida foi feita a hidratação da amostra dentro de um béquer com água fazendo-se uma homogeneização com as mãos por 30 minutos, então fez-se adição da solução de uréia e de 0,2 mL de alfa amilase, o conjunto foi aquecido em banho Maria a temperatura de 90°C por 15 minutos. Após os saquinhos foram dispostos nas bandejas do Determinador de Fibra TE-149 da marca TECNAL<sup>®</sup> onde a amostra foi digerida em detergente neutro juntamente com 1,5 mL de alfa amilase sob a temperatura de 100°C por 60 minutos. O detergente neutro tem a finalidade de realizar a extração baseada na solubilização de constituintes do conteúdo celular (proteínas, gorduras, carboidratos solúveis, pectina e outros; Souza et al., 2006). Depois se fez o escoamento da solução de detergente neutro presente no equipamento para um pote, com o intuito de se reutilizar essa solução, pois, de

acordo com Souza et al. (2006) a reutilização da solução de detergente gera uma economia relacionada a redução dos custos com aquisição de reagentes.

Por fim, foi feita a lavagem da amostra com água deionizada, os saquinhos contendo o resíduo foram lavados com acetona e deixados sob papel absorvente até estarem bem secos e então colocados em estufa de circulação de ar a 105°C por 4 horas, depois foram colocados em dessecador e pesados.

Este método foi escolhido por ser feito em ambiente fechado, o que representa uma vantagem sobre o método convencional proposto por Silva & Queiroz (2009) e de acordo com Berchielli et al. (2001) a metodologia convencional depende muito de mão de obra individual, limitando a eficiência do procedimento.

A FDN foi obtida pelo seguinte cálculo:

$$\%FDN = (PD - Tara) \times 100 / PA$$

Onde: PD = peso do saquinho + amostra (g); Tara = peso do saquinho (g); PA = peso da amostra (g).

#### **5.2.6. Determinação da Fibra em Detergente Ácido (FDA)**

A fibra em detergente ácido é a porção menos digerível da parede celular pelos das forrageiras pelos ruminantes, é constituída em sua maior parte de lignina e celulose (Silva & Queiroz, 2009).

No estágio pesamos a amostra em saquinho de TNT e utilizamos o mesmo procedimento feito para FDN, mudando apenas a solução, pois, a amostra foi digerida em solução de detergente ácido que solubiliza o conteúdo celular, a hemicelulose e os minerais solúveis, deixando praticamente inalteradas as frações de lignina e celulose. O procedimento utilizado está de acordo com Souza et al. (2006), que realizou basicamente o mesmo procedimento para análise de FDN e FDA em ensaios utilizando a digestão de amostra em sistema fechado.

O valor da FDA foi obtido pelo cálculo:

$$\%FDA = (PD - Tara) \times 100 / PA$$

Onde: PD = peso do saquinho + amostra (g); Tara = peso do saquinho (g); PA = peso da amostra (g).

Segundo Silva & Queiroz (2009) se sabemos a porcentagem dos constituintes da parede celular (FDN) e da FDA do material analisado, é possível calcular a fração de hemicelulose apenas pela diferença entre as frações:

$$\text{Hemicelulose (\%)} = \text{FDN (\%)} - \text{FDA (\%)}.$$

### 5.2.7. Análise de Extrato etéreo

A análise de extrato etéreo é importante, pois informa o teor de gordura do alimento, sendo esta fundamental na formulação de rações por ser responsável pelo valor energético mais elevado do que as demais frações do alimento.

Esta análise é baseada na extração da fração gordurosa e demais substâncias solúveis através do arraste por solvente. Para dissolver gorduras, óleos, pigmentos e demais substâncias gordurosas solúveis contidas em uma amostra seca a ser analisada são utilizados solventes, os quais após extraírem o conteúdo lipídico são recuperados por evaporação (Silva & Queiroz, 2009). Os principais métodos para extração de gordura são: Soxhlet, que consiste na lavagem intermitente da amostra com solvente apolar e Goldfish, lavagem contínua com solvente apolar (Casagrande, 2010).

O método utilizado para esta análise durante o estágio foi o método de extração a quente em éter ou método de Goldfish devido a sua maior rapidez quando comparado ao método de Soxhlet.

A extração de todo lipídeo da amostra através do método de Soxhlet pode durar em torno 24 horas, por causa do efeito de saturação decorrente da lavagem intermitente, enquanto a extração pela metodologia de Dumas é realizada em quatro horas.

Como reagente utilizou-se o éter de petróleo, também poderia ter sido utilizado o éter etílico, porém para sua utilização é preciso licença da Polícia Federal, além de apresentar um alto custo, inviabilizando sua utilização.

Os procedimentos realizados consistiram na pesagem três gramas de amostra em cartuchos de celulose, que foram colocados em reboiler com 100 mL de éter de petróleo. A extração foi realizada com a amostra mergulhada no éter por duas horas. Logo após foi feito o gotejamento, processo no qual não há contato do cartucho com o éter durante trinta minutos, então se passou para recuperação do éter por um período de mais trinta minutos. O éter recuperado foi guardado em recipiente de vidro apropriado para ser reutilizado em uma segunda extração. De acordo com Casagrande (2010), o éter de petróleo recuperado, proveniente da primeira extração de gordura, pode ser usado novamente para extrair gordura das matérias-primas: farinha de víscera de aves, farinha de pena de aves e soja em grão, mantendo a mesma reprodutibilidade do éter puro para análise (P.A.), porém, esse mesmo autor não indica o reuso do éter para amostras de farelo de soja, provavelmente pela sua maior quantidade de fosfolipídios.

Toda gordura extraída da amostra foi levada à estufa de ventilação forçada a 105°C para evaporação do éter residual e retirada da umidade, e após, o extrato gorduroso resultante no reboiler foi pesado.

A percentagem de extrato etéreo foi obtida pelo seguinte cálculo:

$$EE\% = (Pb - Pa) \times 100 / P$$

Onde: EE = Extrato etéreo (g); Pa = Peso do reboiler (g); Pb = peso do reboiler mais o extrato etéreo (g); P = Peso da amostra (g).

#### **5.2.8. Determinação de Extrato Etéreo via Hidrólise Alcalina**

Este método determina o total de substâncias solúveis em solventes orgânicos, sendo estas substâncias os acigliceróis, os ácidos graxos livres, o colesterol, a lecitina, a clorofila, os alcoóis voláteis, os óleos voláteis e as resinas. A substância utilizada como solvente foi uma mistura de éter etílico e éter de petróleo P.A. 1:1, e a substância alcalina foi o hidróxido de amônio P.A.

O método é utilizado para produtos e subprodutos extrusados, lácteos e outros que exijam hidrólise alcalina devido ao sistema de processamento utilizado (Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal, 2009).

Esta análise exige uma série de procedimentos em que são feitas adição de álcool etílico, éter etílico e éter de petróleo e agitação da amostra sempre que são adicionados alguns destes compostos. Em seguida, o sobrenadante foi filtrado com algodão para dentro de um béquer. O béquer foi colocado em banho Maria na temperatura de 100°C até a completa evaporação do éter e, então, levado à estufa com circulação de ar a 105°C, por uma noite até atingir peso constante. Após retirar da estufa colocou-se em dessecador por 30 minutos e pesou-se o extrato etéreo final.

O cálculo foi:

$$\text{EE via Hidrólise alcalina (\%)} = \text{PD} - \text{Tara} / \text{PA}$$

Onde: PD = peso do béquer + extrato etéreo (g); Tara = peso do béquer vazio (g); PA = peso da amostra (g).

### **5.2.9. Determinação da Acidez em óleos e Gorduras**

As gorduras em geral são formadas por triglicerídeos, que são ácidos graxos ligados a uma molécula de triglicerol por pontes de ésteres, quando esses triglicerídeos são hidrolizados ocorre à formação dos ácidos graxos livres, responsáveis por depreciar a qualidade da gordura. A presença de ácidos graxos livres indica que a gordura foi exposta à ação de agentes hidrolizantes como água, ácidos, temperatura e (ou) enzimas (Bellaver, 2009).

A determinação da acidez foi realizada com a dissolução da amostra em álcool e éter neutralizados e por agitação constante. Os ácidos presentes foram titulados com NaOH até uma coloração levemente rósea persistente por 30 segundos, tendo como indicador fenolftaleína. Os autores Araújo (2006) e Fré (2009) indicam o mesmo procedimento para determinação de ácidos graxos livres, mostrando que o procedimento adotado pelo laboratório é confiável.



Foi feita uma prova em branco somente com a solução éter/álcool. A quantidade de amostra e tipo de solução para esta análise dependerá do tipo de amostra a ser analisada (Tabela 4).

Tabela 4. Quantidade de amostra, solução e tipo de solução específicos para o tipo de amostra analisada

Tipo de amostra	Amostra(g)	Volume da solução éter-álcool (mL)	Bureta	Solução para titulação
Óleo degomado	7,0	50	25 mL	NaOH 0,1N
Óleo neutro	5,0	25	10 mL	NaOH 0,01N
Óleo refinado	5,0	25	10 mL	NaOH 0,01N
Gordura	7,0	50	50 mL	NaOH 0,1N

Fonte: Laboratório Exata.

#### **Índice de acidez: $(V-B) \times N \times F \times 100/P$ ;**

Onde: V = volume de NaOH gasto na titulação (mL); B = volume gasto na prova em branco (mL); N = normalidade padrão de NaOH (mL); F = fator de correção; P = peso da amostra (g).

#### **5.2.10. Índice de saponificação**

O índice de saponificação está relacionado a quantidade de ácidos graxos livres em uma amostra de óleo. É definido por Cecchi (2003) como sendo o número de miligramas de hidróxido de potássio necessários para neutralizar os ácidos graxos resultantes da hidrólise completa de um grama de amostra.

Os ácidos graxos livres são formados devido a rancidez hidrolítica enzimática, que se refere à hidrólise de óleos e gorduras devido a ação de enzimas lípases presentes no material (Osawa & Gonçalves, 2006). Segundo Moretto & Fett (1998) citado por Pereira et al. (2010) o índice de saponificação demonstra a presença de óleos e gorduras de alta proporção de ácidos graxos, de baixo peso molecular, em misturas com outros óleos e gorduras, e quanto

menor o peso molecular do ácido graxo, tanto maior será o índice de saponificação, grosseiramente; para as gorduras vegetais, quanto mais altos os índices de saponificação mais se prestam para fins alimentares. Osawa & Gonçalves (2006) relatam que os ácidos graxos livres formados são responsáveis pelo sabor e odor desagradáveis, especialmente em gorduras como a manteiga, que possui grande quantidade de ácidos graxos de baixo peso molecular.

De acordo com Araújo (2006) o índice de saponificação (I.S.) não serve para identificar o óleo, pois muitos óleos possuem esses índices muito semelhantes (Tabela 5).

A indicação do índice de saponificação é utilizada principalmente para verificar a adulteração com parafina que possui I.S. muito baixo, ou com outros óleos ou gorduras com I.S. bem diferentes.

Tabela 5. Valores de índice de saponificação de algumas gorduras

Material	Índice de Saponificação
Óleo de frango	190-196
Óleo de peixes	189-193
Sebo bovino	190-202
Banha suína	190-194
Óleo de milho	187-193
Óleo de soja	189-195

Fonte: Adaptado de Bellaver & Zanotto (2004).

Os procedimentos adotados durante o estágio foram: pesou-se cinco gramas de amostra em reboiler, adicionou-se 50 mL de solução alcoólica (KOH + CaO) em seguida foi colocada no mesmo extrator de EE por um período 30 minutos iniciando a contagem no momento em que começou a fervura, após extração realizou-se a titulação com HCl 0,5 M tendo como indicador a fenolftaleína. Tal procedimento está de acordo com Araújo (2006) e Acchi (2003), porém esses autores indicam o período de uma hora para refluxo no extrator, o que pode resultar em subestimação dos dados.

Para o cálculo foi considerado:

**mg de KOH necessário para saponificar 1g de gordura =  $28,05 \times (B-V) / M$**

Onde: V = volume gasto (mL) de HCl 0,5 M; B = Volume gasto na prova em branco (mL); M = massa de amostra (g).

### 5.2.11. Índice de Peróxido

O índice de peróxido é uma determinação analítica para avaliar o estado de oxidação de uma gordura (rancidez), sendo definido como a medida do teor de oxigênio reativo, em termos de miliequivalentes de oxigênio por 1000 g de gorduras, indicando o grau de oxidação da gordura (Ribeiro & Seravalli, 2004). Os alimentos com elevado teor de lipídeos são mais susceptíveis a oxidação, destacando-se o grão moído e a farinha de origem animal (Hannas et al., 2003).

O peróxido oxida o iodeto de potássio a iodo elementar que, por sua vez, forma com o amido um complexo de inclusão de cor característica escura. De acordo com Ribeiro & Seravalli (2004), a quantidade de iodo liberado é a medida da quantidade de peróxidos existentes, que estão relacionados com o grau de oxidação do óleo e, conseqüentemente, com a rancificação oxidativa.

De acordo com os parâmetros estipulados pela legislação ANVISA, (1999), é considerado como o valor de índice de peróxido de 10 meq g/kg como sendo o máximo aceitável para óleo de algodão, óleo de arroz, óleo de girassol, óleo de milho e óleo de soja.

Esta análise foi destinada a amostras de farinhas de origem animal e vegetal, rações, óleos e gorduras. O procedimento realizado esteve de acordo com o Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (2009).

Foram pesados 25,00 g de amostra quando o teor de gordura foi maior ou igual a 6% e 50,00 g para teor de gordura menor que 6%. A amostra foi tratada inicialmente com éter de petróleo e depois com mistura de ácido acético mais clorofórmio, iodeto de potássio e solução de amido, depois ocorreu a titulação com tiosulfato de sódio 0,01 M até o desaparecimento da coloração azul ou violeta.

Cálculo:

$$\text{Índice de Peróxido (mEq/Kg)} = (V-B) \times N \times fc \times 1000 / P$$

Onde: V = volume gasto na titulação da amostra em branco (mL); B = volume gasto na titulação da amostra em branco (mL); N = normalidade do tiosulfato de sódio; P = peso da gordura (g); 1000 = transformação em miliequivalente.

### 5.2.12. Sabões

O método de análises de sabões tem aplicação em óleos degomados como oleotato de Sódio e nas frações controle de processo após centrifugação (máquina) de refino, após a degomagem, após a lavagem e neutralização e no óleo refinado. Através deste método são detectados álcalis, terras alcalinas, sabões de cálcio e outros compostos de natureza básica. Este método é utilizado quando se deseja ter informações sobre pureza do produto auxiliando na sua avaliação.

Esta análise foi realizada de acordo com o método 9333.080 da AOAC (2007). A amostra foi dissolvida em acetona aquosa e titulada com ácido clorídrico onde são determinados sabões e outros compostos básicos no óleo. O procedimento adotado para esta análise foi o seguinte: medir 50 mL de solução acetônica previamente neutralizada com ácido clorídrico e transferir para erlenmeyer de 250 mL; pesar a amostra dentro do erlenmeyer com a solução neutralizada, agitar por 30 segundos e deixar em repouso até que a solução separe em duas fases. Se não houver presença de sabões a camada superior deve apresentar uma coloração amarela. Se houver presença de sabões, a camada superior apresenta coloração verde ou azul, neste caso, titular com solução de HCl a 0,005 N até o surgimento de uma coloração amarela que persista por 2 minutos.

Cálculo:

$$\text{Mg/kg de sabões} = (V \times NR \times 304,4 \times 1000) / Pa$$

Onde: N = Normalidade real da solução de ácido coltrídrico 0,005 N; Fc = Fator de correção da solução de HCl; 304,4 = Equivalente grama do oleato de Sódio; V = Volume da solução gasta na titulação (mL); 100 = Fator de conversão de unidades (% para ppm); Pa = Peso da amostra (g).

### 5.2.13. Determinação da Atividade Ureática

A atividade ureática é determinada em sementes leguminosas. Na soja, a atividade ureática é um teste que indica a presença de fatores tóxicos, como os inibidores da tripsina, por isso é importante o controle de qualidade da soja integral processada, pois fornece informações sobre a inativação dos fatores antinutricionais e os efeitos do aquecimento sobre a qualidade da proteína (Mendes et al., 2004).

Existe uma correlação direta entre os fatores antinutricionais e a urease; ambos são termolábeis, destruídos pelo calor. Portanto, com a inativação da enzima urease teoricamente os fatores antinutricionais estariam destruídos. De uma maneira geral essa análise determina se o farelo de soja recebeu processamento térmico suficiente para inativar os fatores antinutricionais presentes no grão de soja (Lima et al., 2010). Conforme Oliveira et al. (1985), são considerados como ideais valores de pH entre 0,1 e 0,3 para urease em soja tostada corretamente.

Durante o estágio foram pesados 0,40 gramas de amostra em tubos de ensaio contendo identificação B e A. A análise da atividade ureática foi obtida pela diferença de pH da amostra tratada com uma solução tampão de fosfato a pH 7,0 (tubo A) e de uma amostra tratada com solução de uréia a pH 7,0 (tubo B). A amostra com a solução foi levada a banho Maria por 30 minutos sofrendo agitação a cada três minutos, em seguida foi feita a leitura do pH e o resultado obtido pela diferença de pH das amostras. Para esta análise se teve a

metodologia utilizada de acordo com o Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (2009) que é um método muito utilizado pelo laboratório.

Monteiro et al. (2010) ao determinar a atividade ureática de tremçoço, seguiu o método da AOAC, que também consiste na avaliação da diferença de pH da amostra teste e do branco, sendo considerado uma variação de pH < 0,20 como indicação da inativação da uréase e demais fatores antinutricionais. Do mesmo modo, Cabral et al. (1979) utilizou a mesma metodologia para determinar a atividade ureática de farinha de soja integral.

#### **Atividade ureática = pHB – pH A**

Onde: pHB = amostra tratada com solução tampão de fosfato; pH A = amostra tratada com solução de uréia.

#### **5.2.14. Acidez em Ácido Láctico**

Leite ou derivados com elevada acidez, indica elevados níveis de ácido láctico. Peres (2001) explica que a causa mais provável disso é a conversão do açúcar do leite, a lactose, a ácido láctico por bactérias, indicando que alta concentração de ácido láctico implica em alta contagem bacteriana, o que causa degradação do leite e seus derivados. Porém, a acidez não mede a contagem bacteriana do leite, o que deve ser realizada por métodos microbiológicos específicos como contagem em placa e número mais provável. Além disso, permite inferir sobre a estabilidade do leite a processos térmicos durante seu beneficiamento, como a pasteurização, pois se for elevado o leite irá coagular durante esse processo.

A determinação da acidez foi realizada pela pesagem de 5 gramas de amostra em erlenmeyer, adição de 35 mL de água deionizada e 10 gotas da solução indicadora de fenolftaleína 1% na amostra. A fenolftaleína utilizada nesta análise é usada para mostrar a quantidade do álcali que foi necessária para neutralizar o ácido do leite (Brito et al., s/d). Em seguida foi feita a homogeneização e titulação com solução de NaOH, a qual segundo Brito et al. (s/d), tem a função de neutralizar o ácido do leite. Do mesmo modo Santana &

Augusta (1998) determinaram a acidez de manteiga pela titulação com NaOH 0,1 N.

Este método não determina somente a concentração de ácido láctico da amostra, e sim a acidez titulável de todos os outros componentes presentes no leite, pois, a acidez do leite é advinda de vários componentes, como as caseínas, albuminas, gás carbônico, citratos e fosfatos (Milagres, 2008), mas pode estimar de forma confiável e prática o teor de ácido láctico.

Para a determinação da acidez utiliza-se o cálculo:

$$\% \text{ acidez} = V \times N \times Fc \times 0,09 \times 100 / PA$$

Onde: V = volume de NaOH 0,1N gastos na titulação (mL); N = Normalidade da solução de NaOH = 0,1; Fc = fator de correção da solução NaOH; 0,09 = meq-g do ácido láctico ( $C_3H_6O_3$ ) PM = 90 g/mol; PA = peso da amostra (g); 100 = para converter em porcentagem.

#### **5.2.15. Determinação da Acidez Alcoólica**

Fundamenta-se na neutralização com solução alcalina padrão dos ácidos graxos livres, extraídos por um solvente (COMPÊNDIO BRASILEIRO DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 2009). Esta análise é utilizada quando se deseja saber a acidez de produtos ou co-produtos de origem animal, vegetal rações e concentrados.

Foi utilizado como solvente o álcool etílico absoluto previamente neutralizado para a extração dos ácidos graxos livres. Foram pesados 2,5 gramas de amostra de ração em erlenmeyer de 250 mL, adicionou-se 75 mL de álcool etílico absoluto previamente neutralizado e deixou em repouso por 30 minutos fazendo-se agitação a cada 5 minutos. O sobrenadante foi filtrado com papel filtro e funil de plástico, depois foi feita a adição de 50 mL de álcool etílico e a solução permaneceu em repouso por 15 minutos sofrendo agitação a cada 5 minutos. Então, fez uma segunda filtração juntamente ao filtrado obtido na primeira filtração. Em seguida, adicionou-se fenolftaleína 1%, como solução indicadora, e a titulação foi feita com hidróxido de sódio, que atua como neutralizante na análise.

O cálculo consistiu:

$$\text{Índice de Acidez em \% de NaOH} = (V - B) \times N \times F \times 100 / P$$

Onde: V = volume de NaOH 0,1 N gastos na titulação (mL); B = volume gasto na prova em branco (mL); N = normalidade da solução de NaOH; F = fator de correção do NaOH 0,1 N; P = peso da amostra em grama (g).

### 5.2.16. Digestão em Microondas

A digestão de amostras pode ser feita em sistemas abertos, utilizando blocos digestores ou chapas aquecedoras, e em sistemas fechados, utilizando digestores por microondas.

A preparação da amostra é a etapa crítica da análise. Usando os métodos clássicos de digestão de amostras por via úmida, com ácidos, ou via seca, existe a possibilidade de contaminação e ou perdas de elementos voláteis, além do fato de serem trabalhosos e necessitarem muito tempo (Kingston & Jassie, 1986). A digestão da amostra por via seca é feita pela transformação do material em cinzas através da incineração e posterior adição de ácido e a via úmida, é realizada por meio da utilização dos compostos sem incineração, por métodos com utilização de ácidos ou bases (Morgano et al., 2002). A digestão em microondas se dá pela elevação da temperatura, segundo Melo & Silva (2008), a digestão assistida por microondas apresenta vantagens, pois reduz o tempo de preparação, bem como os riscos associados aos métodos clássicos, tais como contaminação e perda dos elementos químicos voláteis.

A digestão foi realizada utilizando Microondas PROVECTOR DGT 100 PLUS®. Foram colocados 0,500 g de amostra no frasco de digestão e 6 mL de ácido nítrico, em seguida o frasco foi devidamente fechado e levado ao microondas por um período de 30 minutos, o resíduo obtido foi transferido para balão volumétrico fazendo a lavagem com água deionizada e diluído até completar o volume de 20 mL. Após a diluição foram colocados aproximadamente 8 mL em tubos de ensaio e encaminhados para a sala de Espectrometria de Emissão Óptica em Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES).



### 5.2.17. Determinação de minerais por via úmida

A determinação de minerais por via úmida objetiva preparar a amostra para determinação de minerais como Ca, Mg, P, K, Na, Cu, Fe, Mn, Zn utilizando o Espectrômetro de Emissão Atômica por Plasma (ICP-OES).

Para esta análise é pesado 0,500 g de amostra em béquer e colocada em chapa de aquecimento a 200°C com solução de ácido nítrico ou clorídrico até a quase evaporação da solução. Após é feita a diluição da amostra em balão de vidro de acordo com o material analisado (Tabela 6).

Tabela 6. Quantidade de material e ácido para digestão em chapa

Material	Análise	Massa(g)	Volume (mL)	Diluição	Digestão	Ácido
Óxidos	macro/ micro	0,500	250	1:50	Chapa	10 mL HCl
Sulfatos	macro/ micro	0,500	250	1:25	Chapa	10 mL HCl
Calcário, fosfórico	macro/ micro	0,500	250	1:25	Chapa	10 mL HCl
Bicarbonato Na/Cl	macro/ micro	0,500	250	1:25	Chapa	10 mL HCl
Premix	macro/ micro	0,250	250		Chapa	6 mL HNO <sub>3</sub>
Sal mineral	macro/ micro	0,250	250		Chapa	6 mL HNO <sub>3</sub>
Fertilizante	macro/ micro	0,250	250		Chapa	6 mL HNO <sub>3</sub>

Fonte: Laboratório EXATA.

O material que possui grande quantidade de matéria orgânica precisa passar por uma incineração em forno mufla antes da digestão em chapa ou então podem ser digeridos em microondas. A digestão em chapa é mais utilizada para materiais que possuem elevado teor de matéria mineral devido a maior

praticidade por não utilizar o forno mufla, porém muitas vezes é preciso utilizar a chapa para rações devido a baixa capacidade do microondas em digerir todas as amostras que estão programadas na rotina de trabalho.

#### **5.2.18. Espectrometria de Emissão Atômica por Plasma (ICP-OES)**

A espectrometria com emissão óptica com fonte plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) é tradicionalmente utilizada para análise de solos e alimentos. Essa técnica é empregada para análise de elementos químicos metálicos e não metálicos. A técnica de ICP-OES tem sido utilizada amplamente devido a uma série de vantagens que oferece, tais como: análise multielementar simultânea, sensibilidade, precisões altas e rapidez (Harper & Oliveira, 2006).

O princípio desta análise é a leitura de linhas espectrais obtidas após a emissão atômica provocada por uma tocha de plasma. Este plasma é um gás altamente ionizado (argônio) contendo igual número de elétrons e íons positivos, é eletricamente condutivo e afetado por um campo magnético. O Plasma é uma fonte de alta temperatura que minimiza efeitos de matriz e produz uma sensibilidade adequada para maioria dos metais e não-metais (Harpe & Oliveira, 2006). A temperatura do plasma utilizado está entre 6000 e 10000 K.

Depois de fazer a abertura das amostras, estas foram enviadas para a sala do ICP, onde é feita a leitura dos elementos desejados (Ca, P, K, Na, Mn, S, Fe, Zn, Se, Al, Mg, Cu, B, Pb, Cr, Cd, Hg, As, Mo).

Antes de se começar a análise é preciso deixar tudo preparado para o correto funcionamento do equipamento, os procedimentos adotados de forma simplificada consistiram em:

- verificação do número de amostras e das soluções que vão ser utilizadas;
- colocação de amostras no Auto Sampler, que é um equipamento responsável por injetar as amostras automaticamente no equipamento sem a necessidade de um operador;
- verificação e purga dos gases (argônio e nitrogênio);
- ligar o plasma;

- calibração do equipamento com amostras CQ (controle de qualidade), amostras padrão e branco, tais amostras possuem a concentração conhecida do elemento a ser analisado.

Se durante a calibração a concentração estiver dentro da faixa, prossegue-se a análise, passando para a leitura das amostras em duplicata.

A amostra foi introduzida em estado líquido no equipamento o OPTIMA 5300DV da Perkin Elmer®, foi transformada em pequenas gotículas por meio do nebulizador, as gotas maiores foram para um dreno enquanto as gotas menores foram para o plasma onde sofrem um processo de emissão atômica cujas linhas espectrais são separadas no espectrômetro e lidas por um detector. O sinal captado pelo detector é transformado em concentração com auxílio de um software e os resultados foram impressos ou salvos no computador em formato específico.

### **5.3. Considerações sobre análises de alimentos**

O objetivo principal da análise de alimentos destinados a nutrição animal é conhecer sua composição química, além de verificar sua identidade e pureza, sejam elas de natureza orgânica ou inorgânica (Silva & Queiroz, 2009). Para isso é importante a utilização de técnicas corretas que proporcionam um resultado confiável da composição do alimento.

Durante o estágio foi observado que a escolha das técnicas utilizadas pelo laboratório Exata levou em consideração a acurácia, praticidade, infraestrutura, relação custo benefício e mão-de-obra adequada e qualificada. A técnica adotada para análise pode ser boa, mas, sem tais quesitos torna-se inviável a sua utilização. Outro ponto observado foi a utilização de vidrarias e equipamentos adequados durante as análises, o que diminui a quantidade erros e contaminação do material a ser analisado, pois uma boa técnica depende da ausência de contaminação de elementos externos para que se tenha o resultado final esperado.

Para os procedimentos das análises são utilizados reagentes que oferecem risco a saúde por serem tóxicos e provocar queimaduras ao contato com a pele, por isso é imprescindível a utilização de equipamentos de segurança

como jalecos, luvas e óculos de proteção. Tais equipamentos foram utilizados durante o estágio com o intuito de prevenção contra acidentes dentro do laboratório. Assim as análises foram realizadas com segurança e atenção por parte dos analistas.

## **6. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O estágio no Laboratório Exata foi de grande valia, pois, proporcionou conhecimento prático da teoria vista durante o curso de Zootecnia, principalmente da área de análises de alimentos destinados a nutrição animal. Ainda foi possível acompanhar e participar de análises não vistas durante a graduação, podendo assim, conhecer novas técnicas e novas tecnologias.

O estágio também proporcionou a oportunidade de conviver com profissionais, trabalhar em grupo e vivenciar situações de erros e acertos humanos, ajudando no meu crescimento pessoal, moral e profissional.

## 7. REFERÊNCIAS

AOAC. **Official methods of analysis of the Association Analytical Chemists**. 18.ed. Gaithersburg, Maryland, 2007.

ALMEIDA, R. **A importância de determinar rotineiramente a matéria seca dos alimentos na fazenda**. 2006. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br/artigos-tecnicos> > Acesso em: 10/08/2011.

ANVISA. Resolução nº 482, de 23 de setembro de 1999, Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de óleos e gorduras vegetais, **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, p.82-87, 1999.

ARAUJO, J.M.A. **Química de alimentos: teoria e prática**. Viçosa: UFV. 2004, 478 p.

AUGUSTA, I.M.; SANTANA, D.M.N. Avaliação da qualidade de manteigas tipo extra comercializadas no estado do Rio de Janeiro. **Revista da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.18, n.4, p.379-381, 1998.

BELLAVER, C. Qualidade: Índice de Acidez em Farinhas e Gorduras Animais. **Revista Graxaria Brasileira**, v.1, 2009.

BELLAVER, C.; ZANOTTO, D.L. Parâmetros de qualidade em gorduras e subprodutos protéicos de origem animal.. In: CONFERENCIA APINCO DE CIENCIA E TECNOLGIA AVICOLAS, 2004, Santos, SP. **Anais....** Campinas: Facta, 2004. v.1., p.79-102.

BERCHIELLI, T.T.; SADER, A.P.O.; TONANI, F.L. et al. Avaliação da determinação da fibra em detergente neutro e da fibra em detergente ácido pelo sistema Ankom. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1572-1578, 2001.

BRITO, M.A.; BRITO, J.R.; ARCURI, E. et al. **Acidez Titulável**. Disponível em: <[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01\\_194\\_21720\\_039246.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_194_21720_039246.html)> Acesso em 18/11/2011.

CABRAL, L.C.; MAIA, G.A.; WHITING, F.M. et al. Contribuição ao estudo de farinha de soja integral: (a) aspectos químicos e tecnológicos. **Revista Ciência Agronômica**, v.9, n.2, p.11-19, 1979.

CARDOSO, A.R.; PIRES, C.C.; CARVALHO, S. et al. Consumo de nutrientes e desempenho de cordeiros alimentados com dietas que contêm diferentes níveis de fibra em detergente neutro. **Ciência Rural**, v.36, n.1, p.215-221, 2006.

CASAGRANDE, M.; HULLER, C.T.; ZANELA, J. Avaliação do reuso do éter de petróleo resultante da primeira extração da análise de extrato etéreo. In: SEMINÁRIO: SISTEMAS DE PRODUÇÃO AGROPECUÁRIA - CIÊNCIAS AGRÁRIAS, ANIMAIS E FLORESTAIS, 4., 2010, Dois Vizinhos. **Anais... Dois Vizinhos**, 2010.

CECCHI, H. M. **Fundamentos Teóricos e Práticos em Análise de Alimentos**. Universidade Estadual de Campinas. 2.ed. São Paulo: UNICAMP, 2003. 207p.

COMPÊNDIO BRASILEIRO DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL. São Paulo: Sindirações. 2009.

FRÉ, N.C. **Obtenção de ácidos graxos a partir da acidulação de borra de neutralização de óleo de soja**. 2009.112f. Dissertação (Mestrado como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

GOMES, F.A.; FASSANI, E.J.; RODRIGUES, P.B. et al. Valores energéticos de alguns alimentos utilizados em rações para codornas japonesas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.2, p.396-402, 2007.

HANNAS, M.I.; PUPA, J.M.R.; MELO, R.C.A. **Qualidade das Rações**. 2003. Disponível em: <<http://www.allnutri.com.br/informativoP/informativo4.PDF>> Acesso em 01/11/2011.

HARPER, K.; OLIVEIRA, A.P. Determinação de elementos-traço em solos e lodos de esgoto por ICP-OES. **Revista Analytica**, n.23, p.53-59, 2006.

KINGSTON, H.M.; JASSIE, L.B. Microwave energy for acid decomposition at elevated temperatures and pressures using biological and botanical samples. **Analytical Chemistry**, v.58, p.2534-2541, 1986.

LIMA, M.R.; MORAIS, S.A.N.; COSTA, F.G.P. **Atividade ureática**. 2010. Disponível em: <<http://pt.engormix.com/MA-avicultura/nutricao/artigos/soja-atividade-ureatica-tratamento-termico-t275/141-p0.htm>>: Acesso em: 18/09/2010.

LOPES, D.C.; SANTANA, M.C.A. **Determinação de proteína em alimentos para animais: métodos químicos e físicos**. Viçosa: UFV, 2005. 98p.

MELO, L.C.A.; SILVA, C.A. Influência de métodos de digestão e massa de amostra na recuperação de nutrientes em resíduos orgânicos. **Química Nova**, v. 31, n.3, p.556-561, 2008.

MENDES, W.S.; SILVA, I.J.; FONTES, D.O. et al. Composição química e valor nutritivo da soja crua e submetida a diferentes processamentos térmicos para suínos em crescimento. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.56, n.2, p.207-213, 2004.

MERTENS, D.R. Análise da fibra e sua utilização na avaliação de alimentos e formulação de rações. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE RUMINANTES, 1992, Lavras. **Anais...** Lavras: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1992. p.188.

MILAGRES, M.P. **Desenvolvimento de metodologia analítica para determinação da concentração real de ácido láctico em leite por cromatografia líquida de alta eficiência- exclusão de íons**. 2008, 58p. Dissertação (Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia em alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

MONTEIRO, M.R.P.; OLIVEIRA, C.T.; SILVA, L.S. et al. Efeito do tratamento térmico na digestibilidade, solubilidade e índice de atividade de urease em tremoço (*lupinus albus* e *lupinus angustifolius*). **Alimentos e Nutrição**, v.21, n.3, p.487-493, 2010.

MORGANO, M.A.; PAULUCI, L.F.; MATOVANI, D.M. B. et al. Determinação de minerais em café cru. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.22, n.1, p.19-23, 2002.

NEUMANN, M. Avaliação, composição, digestibilidade e aspectos metabólicos da fibra. 2002. Disponível em: <<http://www6.ufrgs.br/favet/lacvet/restrito/pdf/fibra.pdf>> Acesso em: 01/11/2011.



OLIVEIRA, P.A.V.; PERDOMO, C.C.; BELLAVER, C. **Utilização do biogás na tostagem do soja integral**. Concordia : EMBRAPA-CNPSA, 1985. 3p. (EMBRAPA-CNPSA. Comunicado Técnico, 94).

OSAWA, C.C.; GONÇALVES L.A.G. Titulação potenciométrica aplicada na determinação de ácidos graxos livres de óleos e gorduras comestíveis. **Química Nova**, v.29, n.3, p.593-599, 2006.

PEREIRA, M.R.; OLIVEIRA, M.; BOHN, A. et al. Avaliação de efeitos do armazenamento refrigerado de grãos de soja na manutenção da qualidade do óleo. In: XIX Congresso de Iniciação Científica e XII Encontro de Pós-Graduação e a II Mostra Científica da Universidade Federal de Pelotas, 2010, Pelotas. **Anais...** Pelotas, 2010.

PERES, J.R. O leite fermentado como monitoramento nutricional. In: GONZÁLEZ, F.H.D (ED). **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo e vacas leiteiras**. 1ed. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001. p.30-45.

RIBEIRO, C.B. **Proteína: Avaliação de alimentos e exigência em ruminantes**. 2008. 40p. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciência animal). Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2008.

RIBEIRO, E.P.; SERAVALLI, E.A.G. **Química de alimentos**. São Paulo: Instituto Mauá de Tecnologia, Edgard Blucher, 2004. 184p.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3ed. Viçosa: UFV, 2009. 235p.

SOUZA, G.B.; DEL SANTO, V.R.; CARRILHO, E.N.V.M. et al. Reutilização de solução extratora na determinação de fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE METODOLOGIAS DE LABORATÓRIO, 9, 2006, **Anais...** Concórdia: Embrapa, SC. 2006. p.67.