

## DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNA EM ALIMENTOS NÃO PROTEICOS E À BASE DE *WHEY PROTEIN* UTILIZANDO O MÉTODO KJELDAHL

MARIANNE M S MELO<sup>1</sup>; JULIA OUTEIRO, FILIPE S. RONDAN, FERNANDA BALBINOT, THAUANA HEBERLE <sup>2</sup>; MARCIA F MESKO<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – marianne\_msmelo@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – juliamaouteiro@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – fsrondan@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – fer.p.balbinot@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – thauana.heberle@hotmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – marciamesko@yahoo.com.br

### 1. INTRODUÇÃO

O consumo de suplementos alimentares e outros produtos com elevado teor de proteína vem crescendo ao redor do mundo devido à preocupação com a saúde e bem-estar, bem como com a estética (CORDEIRO DE SOUZA et al., 2020). O crescimento na demanda e oferta desses produtos se deve principalmente ao fato de esses suplementos serem frequentemente associados ao ganho de massa muscular e um melhor desempenho ao desenvolver atividades físicas. A princípio, o uso de suplementos foi pensado para atletas de alta performance ou quando existe uma deficiência do nutriente no organismo, porém também ganhou popularidade por praticantes amadores de atividades físicas que almejam melhores resultados (SALAZAR & GARCIA, 2019).

Vale ressaltar que suplementos são classificados conforme sua composição nutricional e contêm ingredientes combinados ou isolados que incluem vitaminas, minerais, carboidratos, aminoácidos, fibras, ácidos graxos e proteínas. Todos esses ingredientes são importantes para o funcionamento do organismo, pois desempenham diferentes funções metabólicas, atuando como catalisadores e componentes estruturais, bem como proporcionando ações mecânicas, hormonal e de defesa. Dois dos tipos mais comuns de suplementos são o hipercalórico (rico em carboidratos) e o proteico (rico em proteínas, comumente obtidas de soro de leite, ou em inglês “*whey protein*”, como são popularmente conhecidos). Tendo isso em vista, é importante determinar o teor de proteínas nesses produtos, promovendo a segurança alimentar para o consumidor, uma vez que as informações destes nos rótulos nem sempre são completas e em sua maioria não apresentam todos os ingredientes na composição e/ou sua real concentração (TOMAZ MELO et al. 2010).

As proteínas, por sua vez, são compostas por moléculas de diferentes aminoácidos ligados entre si (FRANCISCO JUNIOR et al., 2006). Sua composição geral se dá por uma cadeia carbônica, onde numa extremidade sempre há um grupo carboxila (-COOH) e na outra um grupo amino (-NH<sub>2</sub>). Por isso, associa-se comumente o teor de nitrogênio orgânico em uma amostra com o teor proteico.

O método mais utilizado para o controle de qualidade do teor de proteínas em diversos produtos do gênero alimentício é o método Kjeldahl, que possibilita a quantificação do teor de nitrogênio orgânico nas amostras (TOMAZ MELO et al. 2020). O método Kjeldahl consiste em três etapas: digestão, destilação e titulação. Na primeira etapa (digestão) toda fração orgânica da amostra é decomposta utilizando-se um ácido sulfúrico concentrado (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) juntamente com uma mistura de sais de sulfato, que proporciona a fixação do nitrogênio presente na forma de sulfato de amônio (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Na etapa seguinte (destilação) o digerido obtido é

alcalinizado com uma solução de hidróxido de sódio concentrado, produzindo então hidróxido de amônio ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ), que é volatilizado e destilado, condensando – por fim – em um frasco contendo ácido bórico ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ) e um indicador ácido-base. O produto dessa reação é o borato de amônio ( $\text{NH}_4\text{H}_2\text{BO}_3$ ). Por fim, na terceira e última etapa (titulação) o borato de amônio é titulado com um ácido padronizado (normalmente ácido clorídrico,  $\text{HCl}$ ), até a neutralização. Com base na estequiometria da reação, é possível utilizar o dado de volume de  $\text{HCl}$  gasto para calcular a concentração de nitrogênio presente no digerido e, portanto, na amostra (AOAC, 2007).

Como o nitrogênio representa cerca de 16% do peso da proteína, em 100 g de proteína tem-se aproximadamente 16 g de nitrogênio, o que corresponde a um fator de multiplicação no valor de 6,25 para conversão de quantidade de nitrogênio (g) para a quantidade de proteína (g). Em alguns casos, esse fator é diferente para outros alimentos que são constituídos de outras proteínas que apresentam diferentes quantidades de nitrogênio na sua composição (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

Tendo em vista esses aspectos, o objetivo desse trabalho foi determinar o teor de proteínas presentes em diferentes tipos de alimentos industrializados, proteicos e não proteicos, utilizando o método Kjeldahl, bem como comparar os valores encontrados com a informação nutricional fornecida pelo fabricante nas embalagens.

## 2. METODOLOGIA

Foram avaliados 8 tipos de amostras: 2 amostras de biscoitos com baixo teor de proteína (marcas identificadas como bS e bA), 2 amostras de biscoitos proteicos (mesmo fabricante com sabores diferentes identificados como bC e bG), 3 amostras de suplementos proteicos (marcas identificadas como sA, sB e sC) e 1 amostra de suplemento hipercalórico (identificada como sH).

Para execução do método Kjeldahl, dois diferentes procedimentos foram avaliados: o primeiro descrito no livro de métodos oficiais da Associação de Químicos Analíticos Oficiais (AOAC), e o segundo descrito pelo Instituto Adolfo Lutz. Para tanto, as amostras foram pesadas 0,5 g e 0,3 g, respectivamente, sob um papel de seda e colocadas no tubo de digestão contendo a mistura catalítica de sulfato de cobre e sulfato de potássio, de 7,8 g e 0,5 g. Em seguida, esses tubos foram colocados no bloco digestor, onde foi inserido o ácido sulfúrico concentrado e o sistema foi submetido a uma rampa de aquecimento. A temperatura inicial foi de 50 °C e, posteriormente, a temperatura foi aumentada em 50 °C a cada 30 minutos, até atingir a temperatura de 350 °C. Após cerca de duas horas, os digeridos apresentaram coloração verde cristalina, indicando o fim da digestão.

Na etapa da destilação, as amostras foram colocadas em frascos de destilação e inseridas no destilador de nitrogênio. A destilação foi executada até a observância da coloração verde, promovida pela presença do indicador à medida que o borato de amônio é formado. A solução foi então titulada com  $\text{HCl}$  até a mudança de cor do indicador. É importante ressaltar que quanto maior o valor do volume gasto na titulação, maior será a quantidade de nitrogênio presente na amostra. Assim, para quantificar o percentual de nitrogênio total nas amostras utilizou-se a Equação 1:

$$\text{Nitrogênio Total (\%)} = \frac{100 \times 0,014 \times (V_a - V_b) \times F}{P}, \quad \text{Eq. 1}$$

Onde:  $V_a$  = volume do ácido clorídrico gasto na titulação (mL);  $V_b$  = volume do ácido clorídrico gasto na prova em branco (mL);  $F$  = fator de correção do ácido clorídrico  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ;  $P$  = peso da amostra (g);  $0,014$  = miliequivalente grama do nitrogênio

Por fim, para a obtenção do valor de proteína bruta nas amostras, utilizou-se a Equação 2:

$$\% \text{ Proteína bruta} = \% \text{ Nitrogênio total} \times f, \quad \text{Eq.2}$$

Onde:  $f$  = fator de conversão do nitrogênio em proteína

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de proteína bruta (%) e de quantidade de proteína por porção (g) nas amostras avaliadas, determinados por meio do método de Kjeldahl, foram comparados aos valores fornecidos pelos rótulos dos produtos. Os resultados obtidos estão demonstrados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Comparação dos valores determinados (média  $\pm$  desvio padrão,  $n = 3$ ) e informados de proteína bruta (%) e proteína por porção (g) em amostras alimentícias proteicas e não proteicas.

Amostra	Proteína bruta (%)		Diferença de teor proteico (%) *	Proteína por porção (g)	
	Determinada	Informada		Determinada	Informada
bS	0,38 $\pm$ 0,16	zero	zero	0,11	zero
bA	0,48 $\pm$ 0,17	1,42	66,19	0,13	0,4
bC	1,24 $\pm$ 0,16	38,0	96,73	0,56	17
bG	5,98 $\pm$ 0,18	42,0	85,76	2,69	19
sH	5,52 $\pm$ 0,35	10,6	47,92	8,83	17
sA	22,63 $\pm$ 0,83	82,0	27,66	7,46	27
sB	66,79 $\pm$ 3,81	71,4	6,45	23,37	25
sC	60,00 $\pm$ 2,00	62,5	4,00	24,00	25

\*Diferença obtida na comparação dos valores de proteína bruta (%) determinados e informados.

De acordo com a resolução RDC (Resolução da Diretoria Colegiada) nº 18 (ANVISA, 2010) estipula-se que para um suplemento ser considerado proteico deve conter no mínimo 10 g de proteína na porção, sendo permitido um limite de tolerância de até 20% de diferença entre o valor declarado no rótulo e o valor determinado em análise segundo a RDC nº 360 (BRASIL, 2003).

Dentre os produtos analisados, as que obtiveram melhor resultado na porcentagem de proteína, respeitando o limite de tolerância de até 20% de diferença com relação à informação do rótulo, foram as amostras bS, sB e sC. Todas as demais amostras apresentam informações incorretas no rótulo, excedendo o limite de tolerância determinado pela legislação.

### 4. CONCLUSÕES

Foi possível determinar e comparar os valores obtidos com os valores informados e avaliar as conformidades ou não nos teores de proteína. A não conformidade nas amostras, principalmente com relação aos suplementos proteicos, podem prejudicar os consumidores dos produtos, pois estes são adquiridos com o intuito de aumentar a ingestão proteica e, conseqüentemente, os resultados fisiológicos esperados não serão alcançados. Sugere-se que os

fabricantes que comercializam esse tipo de produto realizem um controle de qualidade mais eficaz quanto às quantidades de nutrientes, nesse caso as proteínas, oferecidas nas embalagens, evitando assim um descumprimento das normas e a segurança alimentar em adquirir esses produtos.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. 13. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 18th ed. Current through Revision 2. Washington (DC): AOAC International; 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003. Aprova o Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem**. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, de 26 dez. 2003. Seção 1, no 251. p. 33-4.

CORDEIRO DE SOUZA, W.; ROZA, I.; SMOLAREK, A. D.; MASCARENHAS, L. P. G.. Suplementos alimentares: qual o conhecimento entre adolescentes? **Revista Eletrônica Nacional de Educação Física**, v. 10, n. 15, 2020. DOI: <https://doi.org/10.46551/rn2020101500040>

FRANCISCO JUNIOR, W.E.; FRANCISCO, WELINGTON. **Proteínas: hidrólise, precipitação e um tema para o ensino de química**. Química Nova na Escola, 2006. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Zenebon O, Pascuet N S, Tiglea P, coordenadores. 4a ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz; 2008. 1020 p.

TOMAS MELO, C. M.; ARAÚJO, S. F.; QUEIROZ, C. R. A. dos A.; ALMEIDA, E. S. Estudo da redução de reagentes na determinação de proteínas em alimentos - Método de Kjeldahl. **Innovative Science & Technology Journal**, v. 6, n. 1, p. 35–39,2020. Disponível em: <<https://periodicos.iftm.edu.br/index.php/inova/article/view/999>> Acesso em: 24 ago. 2023.