

FUNDAMENTOS TEÓRICOS E PRÁTICOS  
EM ANÁLISE DE ALIMENTOS



UNICAMP

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Reitor  
MARCELO KNOBEL

Coordenadora Geral da Universidade  
TERESA DIB ZAMBON ATVARIS



Conselho Editorial

Presidente  
MÁRCIA ABREU

EUCLIDES DE MESQUITA NETO – IARA LIS FRANCO SCHIAVINATTO  
MARCOS STEFANI – MARIA INÊS PETRUCCI ROSA  
OSVALDO NOVAIS DE OLIVEIRA JR. – RENATO HYUDA DE LUNA PEDROSA  
RODRIGO LANNA FRANCO DA SILVEIRA – VERA NISAKA SOLFERINI

Heloisa Máscia Cecchi

# FUNDAMENTOS TEÓRICOS E PRÁTICOS EM ANÁLISE DE ALIMENTOS

EDITORIA UNICAMP

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELO  
SISTEMA DE BIBLIOTECAS DA UNICAMP  
DIRETORIA DE TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO

---

Cecchi, Heloisa Máscia.  
C322f *Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos* / Heloisa Máscia Cecchi –  
2ª ed. rev. – Campinas, SP: Editora da Unicamp, 2003.

1. Alimentos – Análise. 2. Tecnologia de alimentos. I. Título.

ISBN 85-268-0641-6  
CDD 664.07  
664

---

Índices para catálogo sistemático:

1. Alimentos – Análise 664.07  
2. Tecnologia de alimentos 664

Copyright © by Heloisa Máscia Cecchi  
Copyright © 2003 by Editora da Unicamp

1ª edição, 1999  
7ª reimpressão, 2018

Direitos reservados e protegidos pela Lei 9.610 de 19.2.1998.  
É proibida a reprodução total ou parcial sem autorização,  
por escrito, dos detentores dos direitos.

Printed in Brazil.  
Foi feito o depósito legal.

Direitos reservados à

Editora da Unicamp  
Rua Caio Graco Prado, 50 – Campus Unicamp  
CEP 13083-892 – Campinas – SP – Brasil  
Tel./Fax: (19) 3521-7718/7728  
www.editoraunicamp.com.br – vendas@editora.unicamp.br

*Aos meus pais, Odete e Nelson,  
meu marido, José Carlos,  
e meus filhos, Tais, Raul e Felipe*



## SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO .....	13
1 MÉTODOS DE ANÁLISE .....	15
1 Escolha do método analítico.....	15
2 Esquema geral para análise quantitativa.....	16
3 Classificação da análise de alimentos.....	18
2 AMOSTRAGEM E PREPARO DA AMOSTRA.....	21
1 Coleta da amostra bruta.....	22
2 Redução da amostra bruta — Amostra de laboratório.....	22
3 Preparo da amostra para análise.....	24
4 Preservação da amostra.....	25
5 Fatores a serem considerados na amostragem.....	25
Prática: técnicas funcionais em amostragem.....	27
3 SISTEMA DE GARANTIA DE QUALIDADE EM LABORATÓRIOS DE ANÁLISE DE ALIMENTOS .....	31
1 Confiabilidade dos resultados e tratamentos estatísticos.....	31
2 Pontos críticos de controle de qualidade em um laboratório de análise de alimentos.....	32
3 Medidas da eficiência de um método analítico.....	35
4 Resumo dos termos mais utilizados.....	36
4 UMIDADE E SÓLIDOS TOTAIS .....	37
1 Introdução.....	37
2 Metodologia.....	39
2.1 Métodos por secagem.....	39

2.2 Métodos por destilação.....	43
2.3 Métodos químicos.....	44
2.4 Métodos físicos.....	46
2.5 Equipamentos para análise de multicomponentes.....	47
Prática: determinação de umidade em amostras sólidas, utilizando estufa comum.....	48
<b>5 CINZA E CONTEÚDO MINERAL.....</b>	<b>49</b>
1 Introdução.....	49
2 Importância.....	50
3 Cinza total.....	52
3.1 Cinza seca.....	52
3.2 Cinza úmida.....	54
3.3 Cinza seca <i>versus</i> cinza úmida.....	55
4 Análise dos elementos individuais.....	56
5 Cinza solúvel e insolúvel em água.....	56
6 Alcalinidade da cinza.....	57
7 Cinza insolúvel em ácido.....	57
Prática: determinação de cinzas em alimentos, utilizando a mufla.....	58
<b>6 NITROGÊNIO E CONTEÚDO PROTÉICO.....</b>	<b>61</b>
1 Introdução.....	61
2 Metodologia.....	62
2.1 Análises elementares.....	62
2.1.1 Método de Kjeldahl: determinação através do “N” total.....	62
2.1.2 Método de Dumas.....	64
2.2 Análise por grupos.....	65
2.2.1 Método por biureto.....	65
2.2.2 Método por fenol (Follin-Ciocalteau-Lowry).....	65
2.2.3 Método por espectrofotometria ultravioleta.....	66
2.2.4 Métodos turbidimétricos.....	66
2.2.5 Método dye-binding.....	67
2.2.6 Métodos físicos.....	67
Prática: determinação de proteína pelo método Kjeldahl.....	68
<b>7 CARBOIDRATOS.....</b>	<b>71</b>
1 Introdução.....	71
2 Métodos.....	72
2.1 Amostragem.....	72
2.2 Eliminação de interferentes.....	72
2.3 Métodos qualitativos de identificação.....	73
2.4 Métodos quantitativos.....	74



Prática: determinação de açúcares totais e redutores — Titulação de oxirredução .....	76
<b>8 FIBRA BRUTA (CONCEITO ANTIGO) — FIBRA DIETÉTICA (CONCEITO NOVO)</b> .....	<b>79</b>
1 Definição .....	79
2 Aplicações .....	80
3 Metodologia .....	80
Prática: determinação de fibra por detergente ácido em ração animal .....	83
<b>9 LIPÍDEOS</b> .....	<b>85</b>
1 Introdução .....	85
2 Metodologia de análise .....	86
2.1 Extração com solvente a quente .....	86
2.2 Extração com mistura de solventes a frio — Método de Bligh-Dyer .....	88
2.3 Extração da gordura ligada a outros compostos, por hidrólise ácida e alcalina .....	88
3 Caracterização de óleos e gorduras .....	89
3.1 Índice de iodo (I.I.) .....	89
3.2 Índice de saponificação (I.S.) .....	91
3.3 Caracterização da rancidez de óleos e gorduras .....	92
Prática: determinação de gordura pelo método de Bligh-Dyer .....	94
<b>10 MÉTODOS FÍSICOS</b> .....	<b>97</b>
1 Densimetria .....	97
1.1 Introdução .....	97
1.2 Metodologia de análise .....	98
1.3 Medida da densidade de sólidos .....	101
2 Refratometria .....	102
2.1 Definição .....	102
2.2 Análise qualitativa .....	102
2.3 Análise quantitativa .....	103
2.4 Refratômetros .....	103
2.5 Aplicações .....	104
3 Medida de pH .....	105
3.1 Definição .....	105
3.2 Importância .....	105
3.3 pHmetro .....	105
3.4 Metodologia .....	107
Prática: análise quantitativa por densidade e refratometria .....	109
Prática: medida de pH em alimentos .....	111

<b>11 ACIDEZ</b> .....	115
1 Importância.....	115
2 Aplicação.....	115
3 Tipos de acidez.....	116
4 Tipos de ácidos naturais em alimentos.....	116
5 Métodos de análise.....	116
5.1 Acidez total titulável.....	116
5.2 Acidez volátil.....	117
5.3 Identificação dos ácidos orgânicos.....	118
Prática: determinação de acidez em alimentos.....	119
<b>12 CROMATOGRAFIA</b> .....	121
1 Introdução.....	121
2 Usos e aplicações de cromatografia em geral.....	121
3 Classificação.....	122
4 Tipos de mecanismos (entre solutos e FE e FM).....	123
5 Tipos de desenvolvimento do cromatograma.....	124
5.1 Eluição.....	124
5.2 Deslocamento.....	125
5.3 Análise frontal.....	125
6 Mecanismos de separação.....	125
6.1 Processos físicos.....	125
6.2 Processo químico.....	126
6.3 Processo mecânico.....	126
7 Nomenclatura usada em cromatografia.....	127
8 Medida da eficiência de separação.....	129
9 Medidas da eficiência de uma coluna cromatográfica.....	130
9.1 Número de pratos teóricos ( <i>N</i> ).....	130
9.2 Altura equivalente de um prato teórico.....	131
9.3 Equação de Van Deenter.....	131
<b>13 CROMATOGRAFIA PLANAR</b> .....	135
1 Cromatografia em papel.....	135
1.1 Introdução.....	135
1.2 Vantagens.....	135
1.3 Fase móvel e fase estacionária.....	135
1.4 Técnicas analíticas.....	136
1.5 Tipos de desenvolvimentos.....	137
1.6 Eficiência de separação.....	138
1.7 Confirmação da identidade.....	139
1.8 Aplicações.....	139
2 Cromatografia em camada delgada.....	140

2.1	Introdução	140
2.2	Vantagens e desvantagens	140
2.3	Técnicas analíticas	141
2.4	Aplicações	141
2.5	Cromatografia em camada delgada de alta eficiência (CCDAE)	142
	Prática: separação e identificação de corantes artificiais por cromatografia em papel	142
	Prática: triagem de aflatoxinas por cromatografia em camada delgada	144
<b>14</b>	<b>CROMATOGRAFIA EM COLUNA</b>	<b>147</b>
1	Cromatografia líquida em coluna aberta	147
1.1	Cromatografia de adsorção: cromatografia líquida-sólida	147
1.1.1	Introdução	147
1.1.2	Processo de separação	148
1.1.3	Tipos de cromatografia	148
1.1.4	Aplicações	149
1.2	Cromatografia de partição: cromatografia líquida-líquida	149
1.2.1	Introdução	149
1.2.2	Processo de separação	149
1.2.3	Aplicações	150
1.3	Cromatografia líquida de troca iônica	150
1.3.1	Introdução	150
1.3.2	Processo de separação	150
1.3.3	Tipos de fase móvel (FM) e fase estacionária (FE)	150
1.3.4	Aplicações	151
1.4	Cromatografia de exclusão molecular	151
1.4.1	Introdução	151
1.4.2	Processo de separação	151
1.4.3	Tipos de fase móvel e fase estacionária	152
1.4.4	Aplicações	152
1.5	Cromatografia de bioafinidade	152
2	Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	153
2.1	Introdução	153
2.2	Comparação entre CLAE e coluna clássica	153
2.3	Comparação entre CLAE e CG	154
2.4	Equipamento para CLAE	154
2.5	Tipos de FM	159
2.6	Tipos de FE	160
3	Cromatografia gasosa	161
3.1	Introdução	161
3.2	Vantagens e desvantagens	162
3.3	Processo de separação	162

3.4 Equipamento.....	165
3.4.1 Gás de arraste.....	165
3.4.2 Sistema de introdução da amostra — Injetor.....	166
3.4.3 Colunas.....	168
3.4.4 Detectores.....	170
3.4.5 Termostatos.....	172
3.4.6 Registradores.....	172
3.4.7 Integradores eletrônicos.....	176
3.5 Derivação.....	178
3.6 Aplicações.....	178
4 Cromatografia em fluido supercrítico (CFSC).....	178
Prática: cromatografia líquida-sólida em coluna aberta — Determinação da composição de carotenóides em frutas e hortaliças.....	179
Prática: determinação de vitamina a (na forma de palmitato de retinila) em margarina por CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência).....	182
Prática: determinação do perfil de ácidos graxos em óleos vegetais por cromatografia gasosa.....	183
<b>15 INTRODUÇÃO À ESPECTROMETRIA.....</b>	<b>187</b>
1 Radiação eletromagnética.....	187
2 O espectro eletromagnético.....	189
3 Espectrometria de absorção nas regiões ultravioleta (UV) e visível.....	190
3.1 Introdução.....	190
3.2 Lei de Beer-Lambert.....	193
3.3 Análise qualitativa.....	196
3.4 Análise quantitativa.....	197
3.5 Cálculos da concentração ( <i>c</i> ), utilizando a Lei de Beer.....	197
3.6 Equipamentos.....	198
3.7 Solventes para a amostra.....	201
3.8 Aplicações.....	201
4 Outros métodos ópticos.....	202
4.1 Radiação na região infravermelha.....	202
4.2 Turbidimetria.....	202
4.3 Fluorimetria.....	202
4.4 Absorção atômica e emissão de chama.....	202
4.5 Espectrometria de massa.....	202
4.6 Ressonância nuclear magnética.....	202
Prática: determinação de conservadores em alimentos por espectrometria de absorção ultravioleta (UV).....	203
Prática: determinação de ácido ascórbico (vitamina C) por colorimetria com redução dos íons cúpricos.....	204

## APRESENTAÇÃO

A análise de alimentos é uma área muito importante no ensino de engenharia de alimentos, pois ela atua em vários segmentos do controle de qualidade, da fabricação e da estocagem do alimento processado. Além disso, também é muito útil na caracterização de alimentos *in natura*, principalmente alimentos novos e ainda desconhecidos, como as frutas típicas do Nordeste brasileiro.

Assim, podemos destacar três áreas de maior aplicação da análise de alimentos: a indústria, as universidades e institutos de pesquisa e os órgãos governamentais.

Nas indústrias, os fabricantes de alimentos realizam um rígido controle de qualidade, tanto na matéria-prima que recebem como no produto final processado que sai das fábricas. A matéria-prima é comprada e paga tendo em vista as análises realizadas no recebimento. O produto final processado deve possuir qualidade e uniformidade antes de ser colocado no mercado. Para tanto, é necessário um controle analítico nas várias fases do processamento e, por último, no produto final.

Além disso, as indústrias de alimentos investem em pesquisas de novos produtos e no melhoramento de produtos já existentes. Vários processos analíticos são requeridos nessa etapa também.

Nas universidades e institutos de pesquisa, os processos analíticos são utilizados de várias maneiras:

- pesquisa de nova metodologia analítica;
- pesquisa de novos produtos;
- controle de qualidade dos produtos existentes.

Nos órgãos governamentais, a principal utilização de processos analíticos é na fiscalização e controle de qualidade dos produtos alimentícios e na padronização de novos produtos.

Baseada na importância da análise de alimentos no conjunto do ensino de engenharia de alimentos e, pelo fato de praticamente não existir um livro-texto em português sobre o assunto, esta obra está sendo apresentada.

Portanto, este livro pode ser utilizado por alunos de graduação e pós-graduação em engenharia de alimentos, farmácia e bioquímica, nutrição, agronomia, química e também nos respectivos cursos técnicos.

O livro é constituído de capítulos que descrevem os seguintes conceitos em análise de alimentos:

- metodologia analítica em geral;
- amostragem e tratamento de dados com sistema de garantia de qualidade;
- composição centesimal: umidade, cinzas, proteínas, carboidratos, fibras e lipídeos;
- alguns métodos físicos simples: densidade, refratometria e pH;
- introdução a métodos instrumentais sofisticados: cromatografia e espectrometria.

Os capítulos descrevem fundamentos teóricos e experimentos práticos que podem ser utilizados como guia para aulas de laboratório da disciplina.

Finalmente, esta obra é resultado de 20 anos de docência no assunto, período em que, a cada ano, a preparação das aulas era aprimorada num computador pessoal no qual escrevia apostilas para os alunos, que com o tempo se transformaram neste livro-texto, com o financiamento conjunto da UNICAMP, FAEP e Editora da UNICAMP.

Assim, agradeço a todos que participaram direta e indiretamente da publicação deste livro, como a FAEP, a Editora da UNICAMP, os colegas professores e os alunos de graduação e pós-graduação que forneceram muitas sugestões enquanto o livro ainda era uma apostila.

## MÉTODOS DE ANÁLISE

Em análise de alimentos, os objetivos se resumem em determinar um componente específico do alimento, ou vários componentes, como no caso da determinação da composição centesimal do alimento.

A determinação do componente deve ser feita pela medida de alguma propriedade física, como medida de massa ou volume, medida da absorção de radiação, medida do potencial elétrico etc.

Existem dois tipos básicos de métodos em análise de alimentos: métodos convencionais e métodos instrumentais. Os primeiros são aqueles que não necessitam de nenhum equipamento sofisticado, isto é, utilizam apenas vidraria e reagentes, e geralmente são utilizados em gravimetria e volumetria. Os métodos instrumentais, como o próprio nome diz, são realizados em equipamentos eletrônicos mais sofisticados.

Atualmente, são utilizados, sempre que possível, os métodos instrumentais no lugar dos convencionais. Estes só são empregados em determinadas situações:

- alto custo dos equipamentos eletrônicos;
- não existe equipamento disponível para determinada análise;
- requer-se um método convencional, sob o aspecto da lei, por se tratar de um método oficial;
- em casos raros, os métodos convencionais podem apresentar resultados melhores do que os instrumentais.

### 1. Escolha do método analítico

Em alimentos, a escolha do melhor método de análise é um passo muito importante, pois o alimento é, geralmente, uma amostra muito complexa, em que os vários componentes

da matriz podem estar interferindo entre si. Por isso, em muitos casos, um determinado método pode ser apropriado para um tipo de alimento e não fornecer bons resultados para outro. Portanto a escolha do método vai depender do produto a ser analisado, levando-se em consideração uma série de fatores:

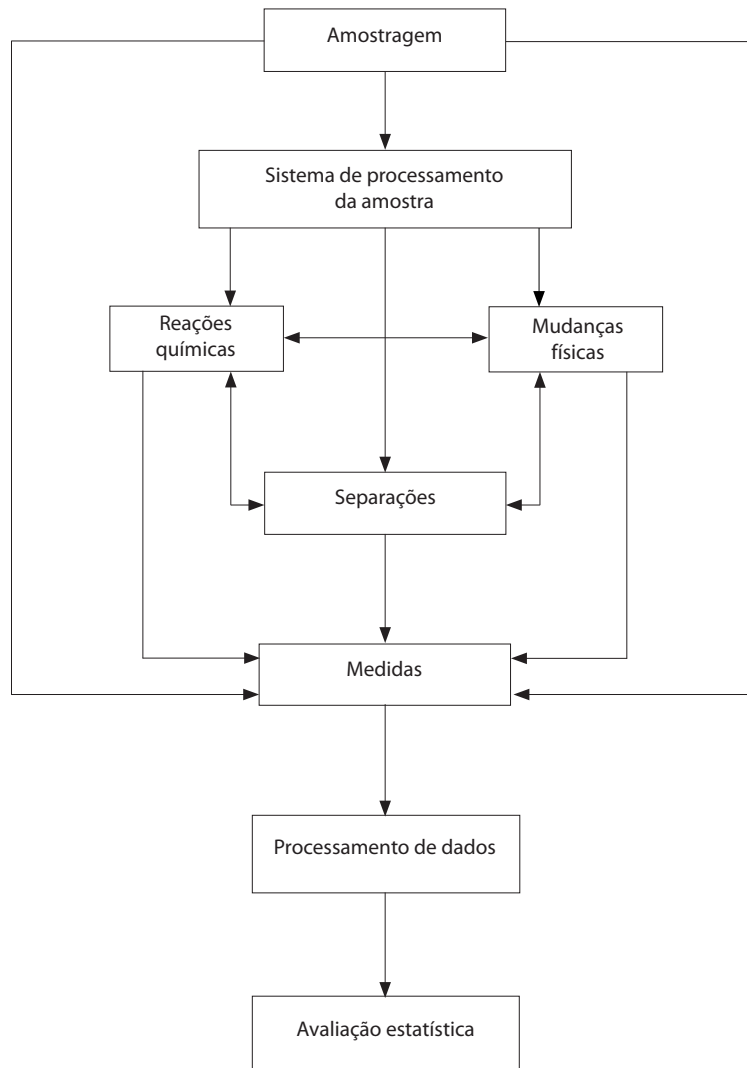
- **Quantidade relativa do componente analisado:** os componentes podem ser classificados em maiores (mais de 1%), menores (0,01%-1%), micros (menos de 0,01%) e traços (ppm e ppb) em relação ao peso total da amostra. No caso dos componentes maiores, são perfeitamente aplicáveis os métodos analíticos clássicos ou convencionais, como os gravimétricos e volumétricos. Para os componentes menores e micros, geralmente é necessário o emprego de técnicas mais sofisticadas e altamente sensíveis, como os métodos instrumentais.
- **Exatidão requerida:** os métodos clássicos por gravimetria e volumetria podem alcançar uma exatidão de até 99,9%, quando o composto analisado se encontra em mais de 10% na amostra. Para componentes presentes em quantidades menores que 10%, a exatidão cai bastante, e então a escolha do método apropriado deve recair sobre métodos mais sofisticados e exatos, como os métodos instrumentais.
- **Composição química da amostra:** a presença de substâncias interferentes é muito constante nos alimentos. A escolha do melhor método analítico vai depender da composição química do alimento, isto é, dos possíveis interferentes em potencial. As análises que envolvem a determinação de um componente predominante em um material de composição relativamente simples geralmente não oferecem grandes dificuldades. Por outro lado, na análise de materiais de composição extremamente complexa, o processo analítico se complica com a necessidade de efetuar a separação dos interferentes potenciais antes da medida final. Na maioria das determinações em alimentos, as amostras são complexas, necessitando de uma extração ou separação prévia do componente a ser analisado.
- **Recursos disponíveis:** muitas vezes não é possível utilizar o melhor método de análise em função de seu alto custo, que pode ser limitante do tipo de equipamento ou até mesmo do tipo de reagente ou de pessoal especializado.

## 2. Esquema geral para análise quantitativa

Qualquer análise quantitativa depende sempre da medida de uma certa quantidade física: massa, radiação emitida, potencial de um eletrodo etc., cuja magnitude deve estar relacionada à massa do componente de interesse presente na amostra tomada para análise. Porém essa medida vai ser, geralmente, apenas a última de uma série de etapas operacionais que compreende toda a análise.

O fluxograma abaixo, extraído de Stewart e Whitaker (1984), dá um exemplo de um processo funcional de uma análise quantitativa.





FLUXOGRAMA DE UMA ANÁLISE QUANTITATIVA

## A. Amostragem

- **Amostragem:** a amostragem é o conjunto de operações com as quais se obtém, do material em estudo, uma porção relativamente pequena, de tamanho apropriado para o trabalho no laboratório, mas que ao mesmo tempo represente corretamente todo o conjunto da amostra. A maior ou menor dificuldade na amostragem vai depender da homogeneidade da amostra. Exemplo: amostra heterogênea: caminho de laranjas; amostra homogênea: lote de suco de laranja processado.
- **Medida de uma quantidade da amostra:** em geral, os resultados da análise quantitativa são expressos em termos relativos. Eles dão, então, as quantidades dos componentes por unidade de peso ou volume da amostra. Portanto é necessário que a quantidade da amostra seja conhecida (peso ou volume) nas operações subsequentes.

## **B. Sistema de processamento da amostra**

A preparação da amostra está relacionada com o tratamento que ela necessita antes de ser analisada, como: moagem de sólidos, filtração de partículas sólidas em líquidos, eliminação de gases etc.

## **C. Reações químicas ou mudanças físicas**

Fazem parte da preparação do extrato para análise. Os processos analíticos compreendem o manuseio da amostra para obtenção de uma solução apropriada para a realização da análise. O tipo de tratamento depende da natureza do material e do método analítico escolhido. Geralmente, o componente de interesse é extraído com água ou com solvente orgânico, e às vezes é necessário um ataque com ácido. Os reagentes químicos introduzidos na preparação do extrato não poderão interferir nos passos seguintes da análise ou, se o fizerem, deverão ser de fácil remoção.

## **D. Separações**

Consistem na eliminação de substâncias interferentes. Raramente as propriedades físicas utilizadas na medida quantitativa de um componente são específicas para uma única espécie, pois podem ser compartilhadas por várias outras espécies. Quando isso acontece, é necessário eliminar esses interferentes antes da medida final. Há duas maneiras para eliminar uma substância interferente: a sua transformação em uma espécie inócua (por oxidação, redução ou complexação) ou o seu isolamento físico como uma fase separada (extração com solventes e cromatografia).

## **E. Medidas**

Todo processo analítico é delineado e desenvolvido de modo a resultar na medida de uma certa quantidade, a partir da qual se avalia a quantidade relativa do componente na amostra.

## **F. Processamento de dados e avaliação estatística**

O resultado da análise é expresso de forma apropriada e, na medida do possível, com alguma indicação referente ao seu grau de incerteza (médias e desvios, coeficientes de variação).

# **3. Classificação da análise de alimentos**

Existem três tipos de aplicações em análise de alimentos:

- **Controle de qualidade de rotina:** é utilizado para checar tanto a matéria-prima que chega como o produto acabado que sai de uma indústria, além de controlar os diversos estágios do processamento. Nesses casos, de análises de rotina, costuma-se, sempre que possível, utilizar métodos instrumentais que são bem mais rápidos que os convencionais.
- **Fiscalização:** é utilizada para verificar o cumprimento da legislação, através de métodos analíticos que sejam precisos e exatos e, de preferência, oficiais.
- **Pesquisa:** é utilizada para desenvolver ou adaptar métodos analíticos exatos, precisos, sensíveis, rápidos, eficientes, simples e de baixo custo na determinação de um dado componente do alimento.

## Bibliografia

- JOSLYN, M. A. *Methods in food analysis (physical, chemical, and instrumental methods of analysis)*. Nova Iorque e Londres: Academic Press, 1970.
- MACLEOD, A. J. *Instrumental methods of food analysis*. Nova Iorque: A Halsted Press Book, John Wiley and Sons, 1973.
- OHLWEILER, O. A. *Química analítica quantitativa*. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 1976, vol. 1.
- POMERANZ, Y. e MELOAN, C. E. *Food analysis: theory and practice*, 2ª ed. Westport: The AVI Publishing Company, Inc., 1982.
- STEWART, K. K. e WHITAKER, J. R. *Modern methods of food analysis*. Westport: The AVI Publishing Company, Inc., 1984.

