

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA
Vinculada ao Ministério da Agricultura

CENTRO DE TECNOLOGIA ALIMENTAR

BOLETIM TÉCNICO N.º 12

Componentes Secundários em Uísques Importados

Lygia M. O. Mendes e Gilvan R. P. Cavalcanti

Pág. 1

Cromatografia Sobre Papel Aplicada aos Corantes Artificiais Tolerados em Bebidas

Maria Lydia S. Cabral e Gilvan R. P. Cavalcanti

Pág. 5

Aplicação do Método Rápido de Biureto para Proteínas em Grãos

Maria da Piedade M. de Carvalho

Pág. 15

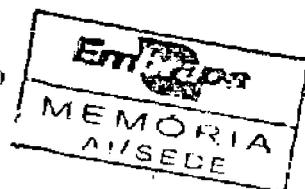
BOLETINS ANTERIORES DO CTA

1. BIBLIOGRAFIA SELECIONADA DA MANDIOCA. Aspectos tecnológicos e nutricionais, com ênfase nas contribuições brasileiras.
2. CONTROLE DA ORIGEM E PUREZA DE GORDURA BOVINA COMERCIAL BRASILEIRA, VISANDO SUA POSSÍVEL PARTICIPAÇÃO NO MERCADO INTERNACIONAL. Herta Laszlo, Dalva Alves Pereira e Marla Helena Luna de Mello Massa.
3. OBTENÇÃO DO ÓLEO DE CÔCO A PARTIR DA POLPA FRESCA. Armando B. Selxas, Dionílio S. Lima, Carlos G. de Alencastro e Ayresina T. B. Castro.
4. ESTUDO QUÍMICO COMPARATIVO DAS VARIEDADES DE MILHO CULTIVADAS EM DIVERSAS REGIÕES DO PAÍS. Dalva D. Mendes.
5. PESQUISAS SOBRE MANDIOCA. Farinha de mandioca enriquecida com farinha de soja especial. Adilson Nobre e José Camões Orlando.
Mandioca Var. amarela da Amazônia. Adilson Nobre.
Seleção de variedades e clones de mandioca visando um melhoramento protéico. Adilson Nobre, Emília Constantino e Waldir de O. Nunes.
Teor protéico e mineral em raízes e folhas de variedades de mandioca. Antônio de A. Figueiredo e Manoel Maciel do Rêgo.
Aparelho para dosagem do ácido cianídrico em mandioca e seus produtos. José Jóla.
A zona mandioqueira e as indústrias de farinha de mandioca do Norte Fluminense. Adilson Nobre e Dinah Mochel de Menezes.
6. ENRIQUECIMENTO NUTRICIONAL DA FARINHA DE MANDIOCA COM PROTEÍNA DE SOJA. Equipe Técnica do CTA.
7. ESTUDO TECNOLÓGICO DE VARIEDADES E LINHAGENS DE TRIGOS BRASILEIROS. Gunther Pape, José Camões Orlando, José Emílio Campos, Marilza Lima Gulmarães e Tânia Barreto Simões Correia.
8. DEFICIÊNCIAS MINERAIS EM PASTAGENS DO RIO DE JANEIRO. Joacir da Silva Barbosa, Wanda V. Santos, Fany H. Jablonka e Olga R. Barbosa.
9. VIABILIDADE TÉCNICA-ECONÔMICA DO ENRIQUECIMENTO PROTÉICO DA FARINHA DE MANDIOCA. Adilson Nobre, José Camões Orlando e Miguel Tavares. REGIÃO DE PRODUÇÃO, CULTURA E INDUSTRIALIZAÇÃO DA MANDIOCA NO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO. Adilson Nobre e Dinah Mochel de Menezes.
10. CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DE SOJA NO BRASIL. Equipe Técnica do CTA.
11. OBTENÇÃO DE ESTEROIDES DO SISAL. Walter B. Mors e Nicolai Sharapín.

COMPONENTES SECUNDÁRIOS EM UISQUES IMPORTADOS(1)

LYGIA M. O. MENDES (2) e GILVAN R. P. CAVALCANTI (3)

SINOPSE



O estudo dos componentes secundários em uísques importados, tem por finalidade conhecer as características desses produtos, a fim de disciplinar a produção nacional.

Os resultados encontrados em análises efetuadas no Centro de Tecnologia Alimentar (ex-Instituto de Tecnologia de Bebidas), em amostras de partidas de uísques escoceses entradas pelo Porto do Rio de Janeiro, no período de 1957 a 1967, demonstraram que cerca de 87% das amostras apresentaram grau alcoólico real entre 42,0 e 43,5° GL; a soma dos componentes secundários no intervalo de 2,0 a 3,4g% no álcool a 100° GL e 23% dos valores inferiores a 2,5g%; na composição da soma dos componentes secundários, os álcoois superiores participam com 61,7%, ésteres e ácidos totais com 16 e 15%, respectivamente, enquanto os aldeídos concorrem com 7%.

INTRODUÇÃO

Nos últimos quinze anos a importância do uísque na balança comercial do Brasil cresceu de maneira sensível. As importações até então de volume e valor negligenciáveis, passaram a constituir um ônus negativo para o erário público. Nasceu daí o interesse imediato de se implantar no território nacional um conjunto de organizações comerciais que, importando a matéria prima de países tradicionalmente produtores fizessem aqui os cortes (blend) para lançamento no mercado. A fase seguinte seria a da construção de maltarias e destilarias que, aos poucos, fossem libertando o país do ônus das importações. A carência de dados analíticos sobre as características destes produtos, gerou a necessidade de se pesquisar nos uísques importados os dados imprescindíveis à elaboração de um conjunto de normas técnicas para este tipo de destilado.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho baseia-se em análises efetuadas no CTA (ex-Instituto de Tecnologia de Bebidas) em 188 amostras de partidas de uísques escoceses, entradas pelo Porto do Rio de Janeiro no período de 1957 a 1967.

Os métodos empregados nas diversas determinações foram os adotados oficialmente pelo ITB e podem ser assim resumidos:

grau alcoólico: destilação e posterior leitura com alcoômetro Gay Lussac, a 15°C;

componentes secundários (álcoois superiores, ésteres, aldeídos, furfural e ácidos): determinados no destilado conduzido a 50° GL;

álcoois superiores: método colorimétrico de Rocques:

- a) fixação dos aldeídos por aquecimento em banho-maria, durante 1 hora, com refluxo, em presença de fosfato de anilina;
- b) destilação em refrigerante de Liebig, recolhendo 3/4 do volume inicial;
- c) reação com H₂SO₄ concentrado, em banho de óleo, à temperatura de 120°C, durante 1 hora;
- d) comparação da cor do ensaio com a obtida usando, nas mesmas condições, um soluto padrão de álcool isobutilico, à concentração de 0,5g% no álcool a 50° GL.

ésteres: saponificação pelo NaOH N/10, por aquecimento em banho-maria durante 1 hora, com refluxo; adição de H₂SO₄ N/10 e titulação por diferença;

aldeídos: dosagem colorimétrica com o reagente de Schiff (bissulfito de rosanilina) utilizando como tipo uma solução de aldeído acético, na concentração de 0,50g% no álcool a 50° GL;

(1) Aprovado para publicação em 12-9-74, pela Comissão Técnica de Divulgação do Centro de Tecnologia Alimentar - CTA.

(2) Pesquisador em Química do Ministério da Agricultura.

(3) Pesquisador do CTA - EMBRAPA - R. Jardim Botânico, 1024 - Rio de Janeiro - RJ. Bolsista do CNPq. TC-14.638.

furfural: dosagem colorimétrica, utilizando a reação com acetato de anilina e um soluto tipo na concentração de 0,1g% de furfural no álcool a 50° GL;

ácidos totais: titulação pelo NaOH N/20 empregando 50 ml da amostra e fenolftaleína como indicador;

soma dos componentes secundários: na determinação da soma dos componentes secundários, foram considerados: álcoois superiores, em g de álcool isobutílico por 1.000 ml do produto; ésteres, em g de acetato de etila por 1.000 ml do produto; aldeídos, em g de aldeído acético por 1.000 ml do produto; ácidos totais, em g de ácido acético por 1.000 ml do produto; todos avaliados no álcool a 100° GL.

RESULTADOS

Distribuição do grau alcoólico real

A representação dos dados através de uma distribuição de frequência (Quadro 1) indica que 5% das amostras apresentam grau alcoólico inferior a 42° GL, apenas 3% superior a 44 e 87% estão entre 42,0 e 43,5° GL. A média nas amostras analisadas é de 42,8° GL, com desvio padrão de 0,6. O intervalo em que se concentram estes valores é limitado por 41,7 e 43,9° GL.

QUADRO 1 — Distribuição do grau alcoólico real nas amostras de uísque

Grau alcoólico real (G. L.)	Número de amostras	Porcentagem
41,0 — 41,4	1	0,53
41,5 — 41,9	8	4,26
42,0 — 42,4	41	21,81
42,5 — 42,9	59	31,38
43,0 — 43,4	64	34,04
43,5 — 43,9	10	5,32
44,0 — 44,4	3	1,60
44,5 — 44,9	—	—
45,0 — 45,4	1	0,53
45,5 — 45,9	1	0,53
Total	188	100,00

Distribuição dos valores da soma dos componentes secundários

Para estimar se as diferenças existentes entre os valores dos diversos anos, apresentados no Quadro 2, podem ser consideradas significativas, utilizou-se o processo estatístico de análise de variância.

QUADRO 2 — Distribuição da soma dos componentes secundários através dos anos

Anos	Número de amostras	Soma dos componentes secundários g%
1957	12	3,082
1958	17	2,541
1959	1	2,336
1964	20	2,839
1965	25	2,645
1966	39	2,608
1967	74	2,833
Total	188	2,753

O valor de "F", que testa a diferença entre as amostras é 0,865. Como este valor é inferior ao valor teórico de "F", 2,2 ao nível de significância de 5%, as diferenças entre as médias da soma dos componentes secundários não são significativas, admitindo-se, portanto, que as amostras tenham a mesma soma dos componentes (Quadro 3).

QUADRO 3 — Análise da variância

Típos de Variação	Graus de liberdade	Soma de quadrados	Média de quadrados
Entre as amostras	5	33,720	6,744
Dentre as amostras	181	1.411,356	7,797
Total	186	1.445,076	

Nas amostras analisadas, 23% estão abaixo de 2,5g% e 4% são superiores a 3,5g%.

Na faixa de 2,5 a 3,5g% se encontram 73% das amostras (Quadro 4).

QUADRO 4 — Distribuição dos valores das somas dos componentes secundários nas amostras de uísque

Soma dos componentes secundários (g% álcool 100° GL)	Número de amostras	Porcentagem
1,750 — 1,999	1	0,53
2,000 — 2,249	12	6,38
2,250 — 2,499	31	16,49
2,500 — 2,749	52	27,66
2,750 — 2,999	45	23,94
3,000 — 3,249	25	13,30
3,250 — 3,499	15	7,98
3,500 — 3,749	5	2,66
3,750 — 3,999	2	1,06
Total	188	100,00

Construção da faixa de valores

Através da média e do desvio padrão dos componentes secundários, procurou-se determinar os intervalos representativos. Os resultados são apresentados no Quadro 5.

QUADRO 5 — Faixas dos valores dos componentes secundários

Componentes	Média	Desvio padrão	Limites (g% álcool 100°GL)	
			Inferior	Superior
Alcoois superiores	1,697	0,346	1,018	2,376
Ésteres	0,444	0,121	0,206	0,683
Ácidos totais	0,422	0,063	0,300	0,545
Aldeídos	0,189	0,054	0,082	0,296
Total	2,753	0,356	2,056	3,450

Em relação a esses intervalos construídos, cinco por cento das amostras analisadas apresentam soma dos componentes fora dos limites.

Dentre os componentes, aldeídos é que apresenta maior número de amostras fora do intervalo, ou seja, 4,8 por cento, e ácidos totais o componente com menor número de amostras fora do intervalo, apenas 2,6 por cento.

Determinação da participação percentual dos diversos componentes secundários

A participação dos componentes representada pela percentagem de cada um deles em relação à soma é apresentada no Quadro 6.

QUADRO 6 — Participação percentual dos componentes secundários

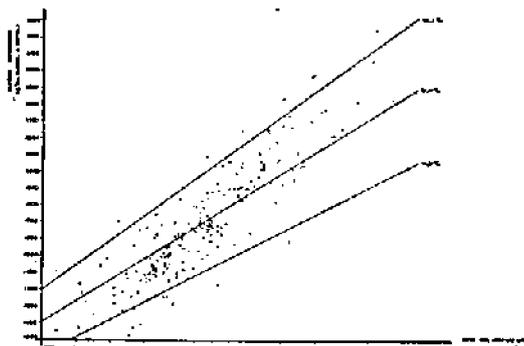
Componentes	Participação	Limites (percentagem do total)	
		Inferior	Superior
Alcoois superiores	61,7	51,0	72,3
Ésteres	16,1	8,2	24,1
Ácidos totais	15,3	11,1	19,6
Aldeídos	6,9	3,7	10,1
Total	100,0	—	—

O componente alcoois superiores é o de maior participação na soma, média de 61,7 por cento, podendo variar de 51 a 72 por cento.

Os demais têm participação menor, máximo de 24 por cento (ésteres) e mínimo de 3,7 por cento (aldeídos). Na Fig. 1 são apresentados os valores do componente alcoois superiores e da soma dos componentes secundários das 188 amo-

stras analisadas, onde se observa que apenas 16 amostras (8,5 por cento) caem fora do intervalo fixado de 51,0 a 72,3 por cento.

FIG. 1 — Diagrama de dispersão entre os alcoois superiores e a soma dos componentes secundários



CONCLUSÕES

87% das amostras analisadas apresentam grau alcoólico real entre 42 e 43,5° GL. Não foi verificada uma tendência para redução, através dos anos (1957 a 1967), da soma dos componentes secundários. Cerca de 23 por cento apresentam soma dos componentes inferior a 2,500g%; a soma dos componentes secundários se encontra no intervalo de 2,056 a 3,450g% no álcool a 100° GL.

Na composição da soma dos componentes secundários, os alcoois superiores têm a maior participação, 61,7 por cento em média, podendo atingir a 72,3 por cento; ésteres e ácidos totais participam, em média, na soma com 16 e 15 por cento, respectivamente, enquanto aldeídos variam entre 3,7 e 10 por cento.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Estatístico José Luiz Gouveia Gonçalves a colaboração prestada na análise estatística dos dados, e ao CNPq pela ajuda financeira proporcionada.

REFERÊNCIAS

- Hernstein, Karl M. e Gregory, Thomas C. 1937. Chemistry and technology of wines and liquors 2a. ed. New York. D. Van Nostrand.
- Rocques, X. Eaux-De Vie. Paris. Librairie Polytechnique Ch. Béranger.
- Thorpe, Edward. Enciclopédia de química industrial. Barcelona Editorial — Labor.
- Ullmann, Fritz. 1950. Enciclopédia de química industrial. Buenos Aires. G. Gill.
- Villavechia, Victor. 1963. Tratado de química analítica aplicada. Barcelona. G. Gill.

SECONDARY COMPONENTS OF IMPORTED WHISKIES

ABSTRACT

In order to establish standards for the production of the national whiskies, a study of the secondary components of imported whiskies has been made.

The analyses performed at the Centro de Tecnologia Alimentar gave in about 87% of the samples, obtained from the Scotch whiskies which entered the port of Rio de Janeiro during the period from 1957 till 1967, the following results:

Real alcoholic degree — 42,0 to 43,5° GL.

Secondary components total sum, expressed in 100° GL alcohol — 2,0 to 3,4g%, including respectively:

Higher alcohols	—	61,7%
Esthers	—	16,0%
Total acids	—	15,0%
Aldehydes	—	7,0%

23,0% of the samples had values of secondary components total sum inferior to the 2,5g% index.

CROMATOGRAFIA SOBRE PAPEL APLICADA AOS CORANTES ARTIFICIAIS TOLERADOS EM BEBIDAS⁽¹⁾

MARIA LYDIA S. CABRAL⁽²⁾ e GILVAN R. P. CAVALCANTI⁽³⁾

SINOPSE

A legislação bromatológica brasileira tolera, apenas, o uso de onze corantes artificiais em algumas bebidas (Tabela de Aditivos para Alimentos, anexa ao Decreto n.º 55.871 de 26 de março de 1965, atualizada em 16/09/1970 pela C. N. N. P. A.).

A pesquisa de corantes ácidos derivados da hulha em bebidas é feita através do Método Oficial Brasileiro (Método de Arata), Portaria do Ministro da Agricultura, n.º 548 de 29 de outubro de 1941.

A identificação posterior dessas matérias corantes com os métodos químicos usuais torna-se laboriosa, não só pela quantidade como pela dificuldade em separar os corantes em mistura. Para superar este inconveniente foi utilizado o método cromatográfico ascendente sobre papel, após isolamento dos corantes pelo Método de Arata.

Os resultados demonstram que a conjugação desses dois métodos permite isolar e identificar mínimas quantidades de corantes.

Na cromatografia ascendente sobre papel, foi usada a água destilada como fase móvel, com bons resultados.

INTRODUÇÃO

Diversos autores já empregaram a cromatografia ascendente sobre papel para pesquisa de corantes artificiais, usando vários tipos de papel e solventes (Block 1956, Carvalho 1962, Feder 1964, Xavier 1954).

Foram repetidos alguns desses estudos usando os papéis Whatman n.º 1, 3MM, Munktell n.º 8 e SS e os solventes butanol, ácido acético, água (B. A. A. — 4: 1: 5), fenol, água, (F: A — 8:2) e água destilada, procurando os que melhor se adaptassem às necessidades de nossos trabalhos.

Observando a nitidez das manchas dos corantes e considerando a toxidez de alguns solventes, julgou-se ser a combinação do papel Whatman n.º 1 com a água destilada a que apresentava maiores possibilidades de aplicação em nossos laboratórios.

Foram efetuadas as determinações dos Rf, sobre soluções aquosas de corantes simples antes e após a aplicação do Método de Arata, soluções aquosas de misturas de corantes após a aplicação do Método de Arata e finalmente sobre corantes simples adclonados a bebidas.

MATERIAL E METODOS

a) Método Oficial Brasileiro para pesquisa das matérias corantes ácidas derivadas da hulha — Método de Arata.

Sobre a sensibilidade desse método, E. Portal e J. Bonastre, da Estação Agronômica e Enológica de Bordeaux, França (Ribereau-Gayon & Peynaud 1958) fizeram uma série de trabalhos que podem ser assim resumidos:

Observaram que o Método Oficial Brasileiro não se restringe, como o Método Francês, a uma única montagem sobre a lã, que deixa juntamente com o corante artificial uma forte proporção de pigmentos naturais, impedindo qualquer conclusão segura. Graças a uma série de montagens e desmontagens, chega-se a recolher e a concentrar em pedaços de lã cada vez menores, unicamente o corante artificial em estado puro.

Efetuarão verificações, tomando por base soluções aquosas de diversos taninos comerciais, uma série de vinhos autênticos de várias procedências, fortemente coloridos, e esses vinhos enriquecidos com diversos taninos comerciais. Em todos os ca-

(1) Aprovado para publicação em 12-9-74, pela Comissão Técnica de Divulgação do Centro de Tecnologia Alimentar - CTA.

(2) Pesquisador em Química do Ministério da Agricultura — Bolsista do CNPq — (TC - 14.699).

(3) Pesquisador do CTA - EMBRAPA - R. Jardim Botânico, 1024 - Rio de Janeiro - RJ. Bolsista do CNPq - (TC-14.698).

sos, obtiveram pedaços de lã perfeitamente brancos. Em seguida, adicionaram doses de Vermelho Bordeaux B de 0,02 a 1 mg por litro a soluções aquosas de taninos e a vinhos adicionados ou não de taninos, obtendo uma série de lãs, com colorações nítidas.

b) Método cromatográfico ascendente sobre papel:

Em folhas de papel Whatman n.º 1 (360 mm x 325 mm) foram marcados 16 pontos com intervalos de 20 mm entre eles e distanciados 30 mm da borda inferior do papel.

Semeou-se, com pipeta micrométrica, 10 mm³ de solução aquosa de corante a 0,5 g/l em cada ponto (5 µg). As misturas de dois corantes foram feitas a partir de volumes iguais das soluções dos corantes simples e usados 20 mm³ em cada ponto, a fim de permanecer a mesma concentração inicial.

Foi empregada, como fase móvel, a água destilada. Fez-se a saturação durante uma hora e imersão cerca de 1 ½ horas, até a frente da fase móvel atingir 200 mm, aproximadamente.

Foi utilizada uma câmara de vidro com capacidade para oito folhas, colocada em sala com temperatura constante (20° C).

Foram determinados os valores dos Rf de dez corantes artificiais de uso tolerado em algumas bebidas, constantes do Quadro 1.

Foram usadas soluções aquosas dos corantes simples e soluções aquosas resultantes de fixações em lã (Método de Arata), visando estabelecer os valores dos Rf desses corantes antes e após aplicação do citado Método.

É oportuno observar que o corante Azul Indantreno (C. I. 69.800), como era previsto, não migrou devido a sua insolubilidade em água. Uma vez que este corante, que normalmente não é empregado em bebidas, também é insolúvel em vários outros líquidos (entre os quais o álcool etílico), julgou-se que aquele fato não invalidava o presente trabalho.

Aproximado o corante através do valor do Rf, as manchas foram cortadas, eluídas em água destilada e sobre a solução resultante, efetuadas reações para identificação, do acordo com as especificações contidas no "Colour Index" (Quadro 2).

c) Descrição das amostras

No teste dos Rf antes e após Arata foram usadas 32 amostras de cada tipo de corante, atingindo cerca de 580 operações.

Foram feitas 16 misturas dos corantes mais utilizados em bebidas.⁽⁴⁾ Dois corantes entraram em três misturas, tendo todos os demais participado em apenas duas misturas. As operações realizadas totalizaram 512, proporcionando o dobro de valores de Rf por se tratarem de misturas.

No caso das bebidas foram usados nove corantes em três bebidas diferentes com 40 operações para cada bebida, totalizando 1.080 valores de Rf.

RESULTADOS E CONCLUSÕES

Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente através de teste de hipótese de diferença de médias e determinação de limites máximos de tolerância.

O teste de diferença de médias aplicado às soluções aquosas de corantes simples antes e após a aplicação do método de Arata apresentou os resultados do Quadro 3.

As diferenças encontradas entre as médias dos Rf dos corantes foram consideradas significativas, pois, como se pode observar, todos os valores obtidos no teste foram bastante superiores a ± 2 (valor ao nível de significância de 5%).

Uma vez que nas bebidas os corantes são isolados através do método de Arata, a existência dessa diferença obriga a considerar, para os valores dos Rf, aqueles encontrados após a aplicação do Arata.

Quanto às misturas dos corantes, o teste de diferença entre as médias dos Rf apresentou resultado significativo para todas as misturas, com exceção da Indigotina com Bordeaux "S" e Indigotina com Vermelho Sólido (Quadro 4).

Tal resultado parece demonstrar que na mistura de corantes os Rf sofrem influência do acompanhante.

Os resultados dos Rf dos corantes, adicionados pelos autores a bebidas, são apresentados no Quadro 5. Somente alguns corantes não tiveram os Rf alterados conforme a bebida, como é o caso da Eritrosina que não sofreu alteração em presença das bebidas utilizadas (valor de teste menor que ± 2).

Finalmente construiu-se o gráfico de limites de tolerância para os Rf dos corantes simples adicionados a bebidas. (Fig. 1).

Diante dos resultados apresentados concluiu-se que:

É possível a utilização do método cromatográfico ascendente sobre papel, para identificação de corantes artificiais tolerados em bebidas, após o isolamento dos mesmos pelo Método de Arata;

A conjugação desses dois métodos permite o isolamento e identificação de mínimas quantidades de corantes;

Os Rf dos corantes em mistura geralmente sofrem influência do acompanhante;

(4) Procedência dos corantes — Sanei Chemical Industrial Co. Ltd. — Osaka, Japão.

Ficou evidenciado também, a influência das bebidas utilizadas nos valores dos Rf dos corantes;

A cromatografia ascendente sobre papel, usando água destilada como fase móvel, torna fácil e econômico seu emprego.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Estatístico José Luiz Gouveia Gonçalves pela colaboração prestada na análise estatística dos dados, e ao CNPq pela ajuda financeira proporcionada.

REFERENCIAS

- Block, R. J., Durrum, E. L. e Zweig, G., 1956. Paper Chromatography. 3a. ed. New York — Academic Press Publishers - p. 278-9.
- Carvalho, D.E.P., 1962. Sobre a aplicação da cromatografia, da luz ultra violeta e da espectrofotometria à análise dos corantes da hulha permitidos pela legislação bromatológica brasileira. *Boletim da Universidade do Paraná*, 7:1-19.
- Colour Index — 1965 - 2a, Ed. — The Society of Dyers and Colourists (England) — The American Association of Textile Chemists and Colorists (USA).
- Feder, S. G., 1964 — Cromatografia em papel de corantes usados em produtos alimentícios. *Boletim da Universidade do Paraná*. 21:35-42.
- Kling, M. A. 1932 — *Méthodes Actuelles d'Experiences*. Paris — Dunod, p. 54.
- Ministério da Agricultura, 1941 — Portaria do Ministro da Agricultura, n.º 548 de 29/04/1941.
- Ribereau-Gayon, J. e Peynaud, E. 1955. *Analyses et Contrôle des Vins*. 12.a ed. Paris — Librairie Polytechnique Ch. Béranger - p. 407-8.
- Xavier, M. R. R. S. - 1954 — Separação e identificação por cromatografia de papel dos corantes da hulha usados em alimentos açucarados. *Arquivos de Bromatologia do Laboratório Bromatológico do Rio de Janeiro*. 2:65-74.

PAPER CHROMATOGRAPHY OF ARTIFICIAL DYES IN BEVERAGES

ABSTRACT

The detection of acid coal tar dyes in beverages is performed by the Official Brazilian Method (Arata's Method), Ordinance of the Ministry of Agriculture number 548, April 29, 1941.

The ulterior identification of this colouring matter by the usual chemical methods is straining not only on account of the little existing detectable material, but also because of the difficulty in separating the mixed dyes.

The authors decided then to associate to the Official Brazilian Method, the ascending technique of paper chromatography.

The results show that this association allow to isolate and identify minimal quantities of acid coal tar dyes.

The use of distilled water as a solvent in the ascending paper chromatography has given good results.

QUADRO 1 — Corantes artificiais tolerados em alimentos

Corante	Classificação	Nome Científico	Colour Index (1956)
Amarelo ácido ou Amarelo sólido	Monoazo	Sal dissódico do ácido 1 — (4 - sulfofenilazo) — 4 — amino - benzeno — 5 — sulfônico.	13.015
Amarelo crepúsculo	"	Sal dissódico do ácido 1 — (4 - sulfofenilazo) — 2 — naftol — 6 — sulfônico.	15.985
Laranja GN	"	Sal dissódico do ácido 1 — (3 - sulfofenilazo) — 2 — naftol — sulfônico.	15.980
Tartrazina	"	Sal trissódico do ácido 3 — carboxil 5 — hidroxil — 1 sulfofenilazo — 4 p — sulfo- fenilazo pirazol.	19.140
Azul de Indantreno RS ou Azul de Alizarina	Antraquinona	N, N' dihidro — 1' — 2' — antraquinonazina.	69.800
Indigotina	Indigóide	Sal dissódico do ácido indigo- tina 5 — 5' dissulfônico.	73.015
Eritrosina	Xanteno	Sal dissódico do 9 — 6 — carboxilfenil 6 — hidroxil — 2, 4, 5, 7, — tetralado — 3, 4 hexantina ou tetraiodo fluore- ceína sodada.	45.430
Bordeaux "S" ou Amarante	Monoazo	Sal trissódico do ácido 1 — (4 sulfonaftilazo) — 2 naftol — 3,6 — dissulfônico.	16.185
Escarlate GN	"	Sal dissódico do ácido 2 — (sulfo 1 — M — xililazo) 1 — naftol — 5 — sulfônico.	14.815
Vermelho Sólido E	"	Sal dissódico do ácido 1 — (4 — sulfonaftilazo) 2 — naftol — 6 — sulfônico.	16.045

Posteriormente, na relação de aditivos tolerados em alimentos, foram incluídos os corantes artificiais "Citrus Red n.º 2" (1 (2,5 - Dimetiloxifenilazo) - 2 - Naftol), não relacionado no Colour Index e Azul Brillante FCF (42.070).

QUADRO 2 — Reações de confirmação (1)

Corante	Colour Index	SOLUBILIDADE			H ₂ SO ₄ (concentrado)		HCl (concentrado)		HNO ₃ (concentrado)	NaOH (concentrado)
		Água	Etanol	Acetona	Pó	Após diluição	Pó	Solução aquosa	Solução aquosa	Solução aquosa
Amarelo sólido	13.015	Solúvel (amarelo esverdeado)	Pouco solúvel		Amarelo esverdeado	Laranja avermelhado		Vermelho alaranjado		Amarelo esverdeado
Amarelo crepúsculo	15.985	Solúvel (laranja amarelado)	Levemente solúvel		Laranja avermelhado	Amarelo		Não muda		Vermelho pardo
Laranja GN	15.980	Solúvel (amarelo ouro)	Pouco solúvel (amarelo ouro pálido)		Laranja	Laranja ouro		Amarelo ouro		Laranja pardo avermelhado
Tartrazina	19.140	Solúvel (amarelo)	Pouco solúvel		Amarelo	Amarelo		Não muda	Solução amarela	Amarelo avermelhado
Azul indantreno	69.800	Insolúvel	Insolúvel	Insolúvel	Pardo	Ppt. azul				
Indigotina	73.015	Solúvel (azul)	Pouco solúvel		Violeta azulado profundo	Azul				Verde para verde amarelado
Eritrosina	45.430	Solúvel (vermelho cereja sem fluorescência)			Amarelo pardacento	Amarelo pardacento (Ppt.)				Ppt. vermelho solúvel
Bordeaux "S"	16.185	Pouco solúvel (vermelho púrpura)	Levemente solúvel		Violeta	Rosa	Pardo com resíduo preto	Vermelho púrpura	Vermelho brilhante	Pardo avermelhado
Escarlate GN (2)	14.815	Solúvel [vermelho alaranjado ligeiramente turvo]	Muito solúvel (vermelho alaranjado)		Vermelho alaranjado	Vermelho alaranjado (ppt. vermelho pardo)		Não muda (ppt. parcial vermelho pardo)		Não muda
Vermelho sólido	16.045	Solúvel (vermelho cereja)	Pouco solúvel (violeta pardo avermelhado fraco)	Pouco solúvel	Violeta	Vermelho cereja (ppt. laranja)		Laranja pardo avermelhado	Vermelho amarelado	Pardo alaranjado

(1) "Colour Index" (1956)

(2) Kling (1932)

QUADRO 3 — *Teste de diferença dos Rf dos corantes antes e após o Arata*

CORANTES	MÉDIA DOS RF		TESTE DOS RF
	Antes	Após	
1. Amarelo sólido	0,902	0,866	6,91
2. Amarelo crepúsculo	0,873	0,793	15,14
3. Laranja GN	0,882	0,815	15,75
4. Tartrazina	0,922	0,800	29,38
5. Indigotina	0,835	0,759	14,01
6. Eritrosina	0,722	0,698	3,97
7. Bordeaux "S"	0,883	0,835	13,41
8. Escarlata GN	0,895	0,822	19,09
9. Vermelho sólido	0,799	0,725	15,81

QUADRO 4 — Testa de diferença dos Rf dos corantes em mistura

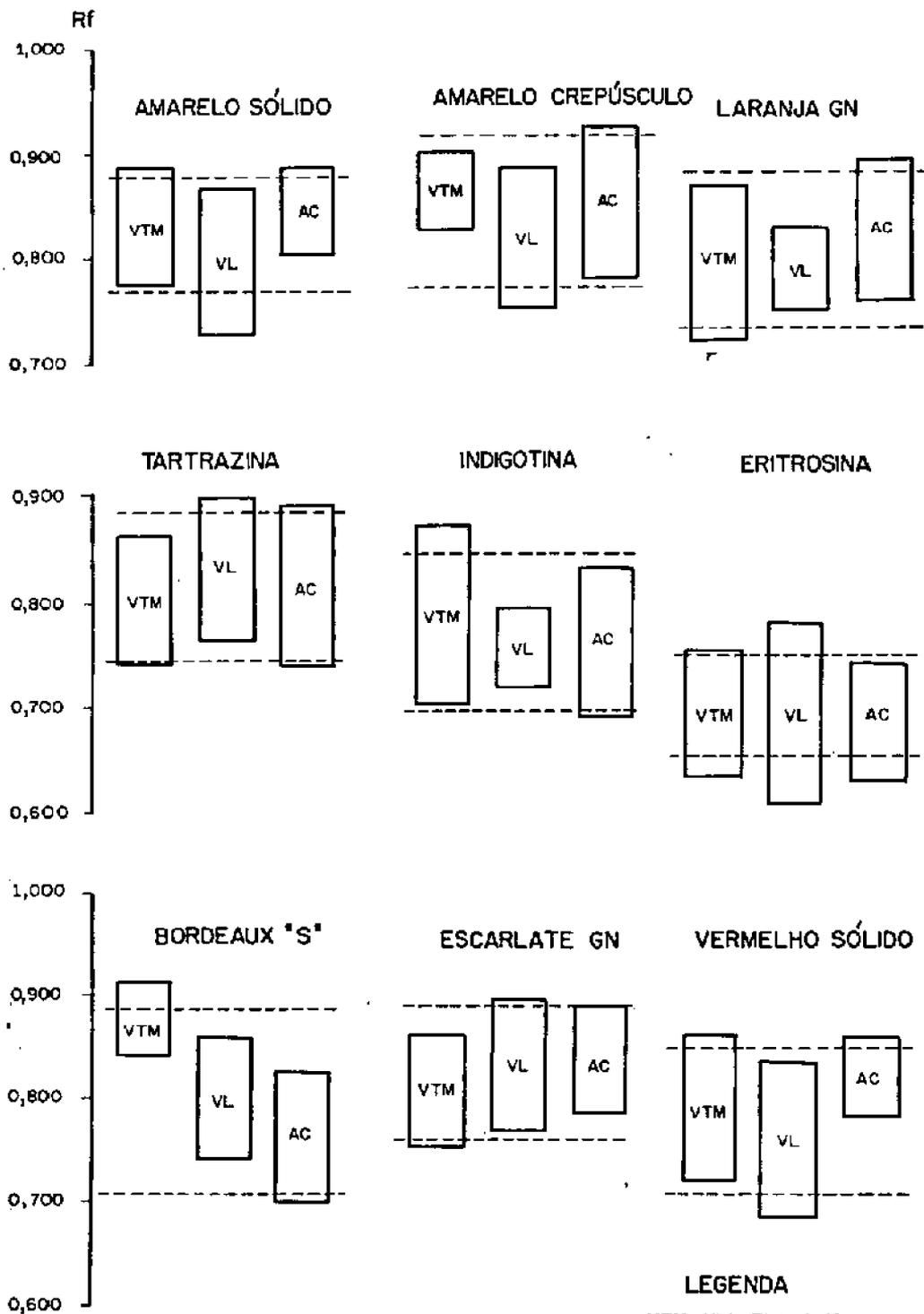
MISTURAS		MÉDIAS	TESTES DOS RF		
			(a) (b)	(a) (c)	(b) (c)
		Amarelo sólido			
a)	Amarelo sólido + Escarlata GN	0,830	12,98	4,20	-6,83
b)	Amarelo sólido + Eritrosina	0,768			
c)	Amarelo sólido + Laranja GN	0,807			
		Amarelo crepúsculo			
a)	Amarelo crepúsculo + Tartrazina	0,761	2,68		
b)	Amarelo crepúsculo + Eritrosina	0,744			
		Tartrazina			
a)	Tartrazina + Amarelo crepúsculo	0,779	6,99	-4,27	12,69
b)	Tartrazina + Bordeaux "S"	0,736			
c)	Tartrazina + Vermelho sólido	0,807			
		Indigotina			
a)	Indigotina + Bordeaux "S"	0,757	-0,63		
b)	Indigotina + Vermelho sólido	0,761			
		Bordeaux "S"			
a)	Bordeaux "S" + Indigotina	0,777	9,36		
b)	Bordeaux "S" + Tartrazina	0,716			
		Escarlata GN			
a)	Escarlata GN + Amarelo sólido	0,815	11,65		
b)	Escarlata GN + Eritrosina	0,759			
		Vermelho sólido			
a)	Vermelho sólido + Indigotina	0,710	-3,87		
b)	Vermelho sólido + Tartrazina	0,733			

QUADRO 5 — *Teste de diferença dos Rf dos corantes em bebidas*

BEBIDAS (Médias dos Rf)			TESTE DOS RF		
Vinho de mesa	Vinho Licoroso	Aguardente composta	(a) (b)	(a) (c)	(b) (c)
(a)	(b)	(c)			
		1. Amarelo sólido			
0,850	0,799	0,849	6,23	0,19	-6,89
		2. Amarelo crepúsculo			
0,867	0,821	0,857	7,27	1,58	-2,04
		3. Laranja GN			
0,799	0,796	0,832	0,56	-3,94	-5,72
		4. Tartrazina			
0,803	0,833	0,819	-3,95	-2,03	1,71
		5. Indigotina			
0,802	0,760	0,745	6,22	2,82	0,78
		6. Eritrosina			
0,699	0,701	0,691	-0,26	1,24	1,28
		7. Bordeaux "S"			
0,873	0,782	0,764	4,38	18,26	0,86
		8. Escarlate GN			
0,811	0,836	0,843	3,74	5,43	-1,13
		9. Vermelho sólido			
0,796	0,745	0,828	2,51	-4,83	-4,15

GRÁFICO-1 CORANTES EM BEBIDAS

LIMITES DOS Rf



LEGENDA

- VTM - Vinho Tinto de Mesa
- VL - Vinho Licoroso
- AC - Aguardente Composta

APLICAÇÃO DO MÉTODO RÁPIDO DE BIURETO PARA PROTEÍNA EM GRÃOS

MARIA DA PIEDADE MONTEIRO DE CARVALHO (1)

SINOPSE

Foram feitas 120 determinações de proteína bruta em farinha de trigo pura e mista, pelo método rápido de biureto e pelo processo Kjeldahl, comparando-se os resultados.

Em lugar de utilizar-se a célula 5 x 10 mm para a leitura de densidade ótica dos filtrados da reação de biureto para farinha de trigo, seguindo-se a duplicação dos resultados, conforme o método Johnson e Craney, utilizou-se a célula 10 x 10 fazendo-se a diluição ao meio desses filtrados e duplicando-se a densidade ótica obtida.

As relações entre os resultados obtidos em percentagem protéica pelo método Kjeldahl e pelo método de biureto são correspondentes.

INTRODUÇÃO

Existem diversos métodos para determinação de proteína, muitos deles dispendiosos. O método clássico de Kjeldahl que utiliza o ácido sulfúrico e um catalizador para mineralização, e uma subsequente destilação de nitrogênio sob forma de amônia, é demorado, complexo e caro para aplicação em larga escala pela quantidade de reagentes necessários. Métodos que utilizam a reação de proteína com reagentes que produzem complexos coloridos foram comentados por Johnson e Craney (1971) os quais incluem reações com a cadeia peptídica (biureto), com grupos alfa-amino livres (Van Slike), com fenol (Folin Ciocalteu), e outros como reação de proteína com tintas orgânicas (Udy, D. C.), a solubilização de proteína do trigo sob pH controlado resultando em solução opalescente, pirólise de material protéico com a medida volumétrica de N₂. Nenhum desses métodos mencionados foi, segundo Johnson e Craney modificação do processo Kjeldahl, mas sim baseados em princípios diferentes. Em anos recentes os produtores de grãos e comerciantes de rações, nos Estados Unidos, alertaram-se para as variações no conteúdo de proteína dos diversos grãos e sentiram a necessidade de métodos rápidos e eficazes para sua determinação. Novo interesse na pesquisa de métodos tem sido dirigida ao aperfeiçoamento daqueles já existentes e entre eles o de biureto.

A reação de biureto se processa quando um complexo protéico reage em condições controladas com uma solução de cobre alcalina, provocando a mudança da coloração verde da solução de cobre para violeta. A intensidade dessa coloração depende da concentração das ligações peptídicas às

quais se unem os ions de cobre. Pela medida espectrofotométrica ou fotocolorimétrica da densidade ótica dos filtrados dessas soluções coloridas, pode-se determinar a concentração de proteína nas soluções.

O processo de biureto foi estudado por Schiff (1898) e adaptado por Riegler (1914) para estimativa de proteína em fluidos biológicos. Pinkney (1949) aplicou-o na determinação de proteínas do trigo com sucesso, porém o processo era lento. Em 1971 Johnson e Craney aperfeiçoaram o método para determinação de proteína em grãos. Esse método rápido tem como objetivo proporcionar alternativa válida, econômica e de fácil execução, para dosar proteína em grãos. Johnson e Craney utilizaram como fonte de ions de cobre o carbonato de cobre adicionado diretamente à amostra, com a vantagem de eliminar o preparo de soluções cúpricas instáveis e que exigem renovação. Observaram que a solução alcalina de álcool isopropílico adicionada à mistura da amostra com o carbonato de cobre, concorre para eliminar a cor marrom da farinha de sorgo que interfere nas medidas de densidade ótica. Fizeram 391 ensaios com diversos grãos aplicando o método rápido de biureto e o de Kjeldahl, paralelamente. A análise dos resultados evidenciou alto grau de correlação entre as medidas de densidade ótica das reações de biureto e as percentagens protéicas dadas pelo método Kjeldahl. Esta pesquisa sugere a realização de tabelas de conversão para cada tipo de grão bem como o traçado das linhas de regressão das relações das medidas em densidade ótica e em percentagem de proteína dadas como resultados da aplicação dos referidos métodos. Lembram os autores que a uniformidade de resultados em

(1) Pesquisador em Alimentos do Setor de Tecnologia do Centro de Tecnologia Alimentar, EMBRAPA - CTA - R. Jardim Botânico, 1024 - Rio de Janeiro - RJ.

densidade ótica não foi verificada entre aparelhos, e por essa razão cada laboratório deveria realizar a própria tabela de conversão pelo seu colorímetro ou espectrofotômetro.

Em vista da facilidade de execução desse método rápido de biureto e a economia de tempo e material que representa na obtenção de resultados decidimos experimentá-lo. O procedimento das análises nas condições de nosso laboratório levounos a adaptações que podem ser exploradas como alternativas na aplicação de método.

MATERIAL E MÉTODOS

Reagentes:

- 1 — Solução alcalina alcoólica: Pesa-se 5.6g de hidróxido de potássio, coloca-se no frasco volumétrico de 1.000ml. Adiciona-se 600ml de álcool iso-propílico e completa-se o volume com H₂O destilada.
- 2 — Álcool iso-propílico.
- 3 — Carbonato de cobre p.a.

Equipamento:

- 1 — Moinho martelo com peneira de 0.25mm ou moinho de cilindro ralado com peneira de nylon malha 8 XX.
- 2 — Balança analítica de precisão.
- 3 — Agitador.
- 4 — Sistema de filtração a vácuo, Gooch de porcelana com filtro de fibra de vidro de 2.7cm. (utilizamos o filtro MN 85 da Machrey Nagel & Co.).
- 5 — Espectrofotômetro e ou colorímetro (utilizamos o espectrofotômetro Coleman, modelo 111).
- 6 — Frascos Erlenmeyer de 250ml com rolhas esmerilhadas.
- 7 — Pipetas de 2ml, 5ml e 50ml.
- 8 — Tubos para testes de 50ml.

Operação:

- 1 — Moer 50gr de amostra, homogenizar.
- 2 — Pesar 1.00 ± 0.01 g, colocar no Erlenmeyer de 250ml.
- 3 — Adicionar 2ml de álcool iso-propílico e agitar.
- 4 — Adicionar 1.00 ± 0.01 g de Carbonato de Cobre.
- 5 — Pipetar 50ml da solução alcalina alcoólica, adicionar ao frasco e tampar.

- 6 — Agitar vigorosamente por 15 minutos.
- 7 — Deixar descansar por 15 minutos para desenvolver a cor.
- 8 — Preparar o Gooch colocando dois filtros de fibra de vidro no mesmo.
- 9 — Agitar manualmente o conteúdo do frasco. Ligar o vácuo e filtrar cerca de 20ml. Desligar o vácuo logo que tenha o filtrado suficiente, para evitar evaporação e concentração.
- 10 — Fazer a leitura da absorção a 550nm e comparar com a curva padrão para verificar a concentração de proteína. Usar célula 10x10mm. No caso de filtrados concentrados diluir ao meio, fazer a leitura e duplicar o resultado da D. O. Optamos pela diluição ao meio para soluções concentradas em lugar da célula 5 x 10mm que faltava no equipamento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram feitos 120 ensaios, em paralelo, para determinação de proteína em farinha de trigo e misturas de farinha de trigo e amido de milho (maizena), pelo método de Kjeldahl e pelo método rápido de biureto, operamos com espectrofotômetro Coleman, modelo 111, utilizando a célula 10x10mm e diluindo em água destilada os filtrados mais concentrados que fugiam à faixa de resolução do aparelho. A diluição em H₂O destilada apresenta a vantagem de diminuir o risco da concentração pela evaporação do álcool dos filtrados. Verificou-se ainda que os filtrados diluídos são estáveis por 24 horas, quando guardados em geladeira em frascos tampados com rolha esmerilhada (Quadro 3). No caso da farinha de trigo medimos a densidade ótica das diluições ao meio dos filtrados e duplicamos os resultados obtidos (Fig. 1), o que forneceu resultados concordantes com os da pesquisa original na qual Johnson e Craney (1971) usaram célula 5 x 10mm.

Pelo método, espera-se que sejam semelhantes as densidades óticas registradas num mesmo aparelho, para triplicatas de amostras que receberam o mesmo tratamento. Não se verificou, entretanto, se existem variações entre medidas feitas em aparelhos diferentes.

A segurança das medidas óticas depende principalmente da limpidez dos filtrados. O filtrado limpo, no caso da reação de biureto em farinhas de grãos, requer filtro que retenha o amido. O filtro de fibra de vidro recomendado no método inicialmente não foi encontrado na praça por tratar-se de material importado. Tentamos a filtração com vários tipos de filtros ou filtros combinados buscando selecionar aquele do qual resultassem filtrados com medidas de densidade ótica reproduzíveis para uma mesma amostra (Quadro 3). Os filtrados de uma mesma amostra obtidos através do filtro de vidro poroso 1-G3 deram resultados concordantes,

porém a continuidade do uso desse tipo de filtro indicou ser impróprio pois sofre desgaste e é de fácil obstrução (Quadro 1). O filtro de fibra de vidro de especificação MN 85-2.7cm da Machrey Nagel & Co., pareceu-nos satisfatório, pois com ele conseguimos uma seqüência de ensaios utilizando farinha de trigo pura e misturas pré-estabelecidas de farinha de trigo com amido de milho (maizena) (Quadro 1, Fig. 2, Quadro 2).

Tentamos a separação pela centrifugação e verificamos que a 5.000 rpm durante 5 minutos pode-se obter um sobrenadante límpido com pequena variação na densidade ótica entro as repetições.

Nas dosagens de farinha de soja a reação se fez normalmente. Observamos entretanto uma variação de densidade ótica nos filtrados da mesma amostra. Atribuímos esse desvio ao fato de as amostras, por serem pequenas, não terem sido submetidas ao moinho de martelo ou cilindro e sim à socagem manual seguida de peneiração. Esse processo pareceu não garantir a homogeneidade granular da farinha, conforme exige o método. A homogeneidade é necessária para que a reação se faça integralmente nas condições do método. Outro fator de variação julgamos ser o alto teor de óleo das amostras, cerca de 20%, que provavelmente tem interferência nas medidas de densidade ótica. Deacon (1971) modificou o método rápido de biureto para determinação de proteína em torta de soja cujo teor de óleo é de cerca de 3% (Markley, 1940). No método modificado por Deacon o processamento se faz a 70°C, sendo que a amostra é agitada numa solução alcalina alcoólica com hidróxido de cobre. Necessitamos entretanto investigar melhor a aplicação do método de biureto em farinha de grão de soja.

CONCLUSÃO

Na análise de resultados representados na Figura 1, observa-se a relação entre percentagens de proteína dadas pelo método Kjeldahl e as densidades óticas de filtrados da reação de biureto dos ensaios realizados neste laboratório em que utili-

zamos farinha de trigo de diversas procedências. A relação dos resultados publicados por Johnson e Craney (1971) comparados com os nossos da Figura 1 leva-nos a concluir que podemos utilizar a diluição ao meio como alternativa na falta da célula 5x10mm. Os nossos resultados das leituras de densidade ótica de diluições ao meio, duplicados, vieram a corresponder aos resultados de leituras de densidade ótica em célula 5x10mm também duplicados, da Johnson e Craney. Os filtros experimentados não foram adequados obtendo-se resultados discordantes. Verificou-se que o apropriado é o filtro de fibra de vidro MN 85-2.7cm da Machrey Nagel & Co., semelhante ao recomendado pelo método. Há necessidade de estabelecer tabelas de conversão específicas para diferentes misturas de farinha de trigo pois a relação densidade ótica percentagem de proteína para farinha de trigo (Quadro 1), não corresponde à relação indicada nos Quadros 2 e 4 para misturas.

Conclui-se que o método do biureto pode ser usado em substituição ao de Kjeldahl fazendo-se, no entretanto, curvas padrão correspondentes à cada produto que se deseje analisar.

AGRADECIMENTOS

O autor agradece aos Srs. GUNTER PAPE, SALATIEL MOTTA e JOSÉ MARTINS FERNANDES a colaboração prestada.

BIBLIOGRAFIA

- Deacon, Benjamin D. 1972. Rapid determination of protein in soybean meals. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 49:661.
- Johnson, R. M. e Craney, Carolee E. 1971. Rapid biuret method for protein content in grains. *Cereal Chemistry*. 48:276-281.
- Markley, Klare, S. 1950. Soybean and soybeans products. 1:436-440. Interscience Publishers Inc. N. Y.
- Pinkney, A. J. 1949. Wheat protein and the biuret reaction. *Cereal - Chemistry*. 26:423-439.

ABSTRACT

Estimation of protein content was made in 120 samples of wheat and flour mixtures by the rapid biuret method of Johnson e Craney and by the Kjeldahl process and the results were compared.

For the spectrophotometer absorbance reading of biuret reaction in wheat flour the filtrates were half diluted and a 10 x 10mm cell was used in the place of the 5 x 10mm cell used by Johnson e Craney. The absorbance values were added and compared to the Kjeldahl protein values. The relation between the biuret absorbance values and Kjeldahl protein values was confirmed.

QUADRO 1 — Densidade ótica dos filtrados da reação de biureto em amostras de farinha de trigo em relação a percentagem de proteína.

Amostra de farinha de trigo	Filtro de Vidro poroso 1G3 (*) D. O. 550nm.	Filtro Fibra de vidro D. O. 550nm.	% Proteína pelo método Kjeldahl
IPEACO (Mult. 11)	0.90	0.83	14.23
" (BH-1146)	0.82	0.82	14.05
" (BH-1146 1)	0.88	0.80	13.71
" (Centrifen)	0.73	0.80	13.50
" (IAS-49)	0.82	0.79	13.45
" (S-473-C-4)	0.84	0.78	13.13
" (IAS-Alvor.)	0.87	0.78	13.10
" (S-12)	0.62	0.71	12.32
" (Y. T. 54xN-B3)	0.78	0.70	12.03
" (CMP-60 R-214)	0.71	0.68	11.79

(*) Nestes ensaios os filtros de vidro 1G3 não deram resultados coerentes com a percentagem de proteína.

QUADRO 2 — Resultados da dosagem de proteína em misturas de farinha de trigo e amido de milho (maizena) pelos métodos Kjeldahl e biureto.

Misturas	D. O. 550nm conc.	D. O. 550 nm dilu. ao 1/2	D. O. 550 nm duplicada	% pelo met. Kjeldahl
Fr. Trigo Boa Sorte	0.6786	0.34879	0.69358	10,76
Fr. Trigo Boa Sorte + 5% maisena	0.6576 0.6556 0.6478	0.32883 0.32883 0.32790	0.65766 0.65766 0.65580	10,31
Fr. Trigo Boa Sorte + 10% maisena	0.5607 0.5654 0.5498	0.28400 0.28483 0.27572	0.56800 0.56966 0.55144	9,69
Fr. Trigo Boa Sorte + 15% maisena	0.5376 0.5376 0.5391	0.27654 0.27654 0.27572	0.55308 0.55308 0.55144	9,23
Fr. Trigo Boa Sorte + 20% maisena	0.4962 0.4962 0.5017	0.25104 0.25104 0.25104	0.50208 0.50208 0.50208	8,53
Fr. Trigo Boa Sorte + 25% maisena	0.4559 0.4559 0.4622	0.23657 0.23657 0.24033	0.47314 0.47314 0.48066	8,24
Fr. Trigo Boa Sorte + 30% maisena	0.4437 0.4437 0.4437	0.21824 0.21824 0.22185	0.43648 0.43648 0.44360	7,69
Fr. Trigo Boa Sorte + 40% maisena	0.4318 0.4318 0.4318	0.21467 0.21467 0.21467	0.42934 0.42934 0.42934	6,67
Fr. Trigo Boa Sorte + 50% maisena	0.35855 0.35655 0.35164	0.17393 0.17393 0.17393	0.34788 0.34788 0.34786	5,72

A sensibilidade do método com relação à farinha de trigo atinge a 5mg de proteína por ml de solução.

QUADRO 3 — Resultados em densidade ótica da reação de biureto na farinha de trigo, variando o filtro e o tempo.

Amostra	Tipo de Filtro	D. O. 550 nm
A — Fr. Trigo (68-N)	Fibra de vidro	0,720
A — Fr. Trigo (68-N)	Fibra de vidro 24 hs. após filtração (*)	0,720
B — Fr. Trigo (68-N)	Fibra de vidro	0,699
B — Fr. Trigo (68-N)	Fibra de vidro 48 hs. após filtração (*)	0,657
A — Fr. Trigo (68-N)	Centrif. 5000 rpm	0,720
	Centrif. 5000 rpm	0,730
	Centrif. 3000 rpm	0,790
A — Fr. Trigo (68-N)	Vidro Poroso 1G3	0,853
	Vidro Poroso 1G3 com fib. amianto	0,853
	Vidro Poroso 1G3 com Whatman 50	0,832
Fr. Trigo (Boa Sorte)	Vidro Poroso 1G3 15 min. repouso antes de filtrar	0,850
Fr. Trigo (Boa Sorte)	Vidro Poroso 1G3 45 min. repouso antes de filtrar	0,870

(*) Os filtrados foram guardados em geladeira em frascos tampados.

QUADRO 4 — Dosagem de proteína em misturas de farinha de gluten pelos métodos Kjeldahl e biureto.

Amostra	D. O. 550nm	% Prot. Met. Kjeldahl
Farinha de Trigo Comercial	0.693	10.76
Fr. Trigo com. + 2% fr. de gluten	0.713	11.97
Fr. Trigo com. + 4% fr. de gluten	0.753	13.13
Fr. Trigo com. + 6% fr. de gluten	0.801	14.09
Fr. Trigo com. + 8% fr. de gluten	0.817	15.27

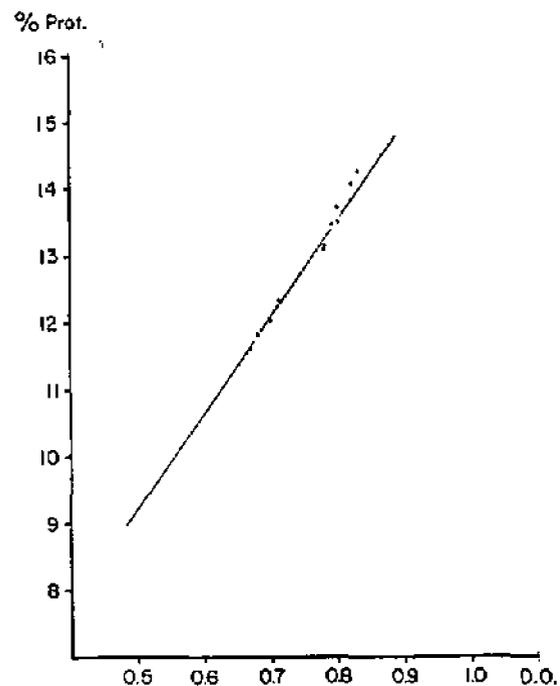


Fig. 1 - Relação entre a D.O. obtida pelo método rápido de biureto e a porcentagem de proteína obtida pelo processo de Kjeldahl em diversas amostras de farinha de trigo.

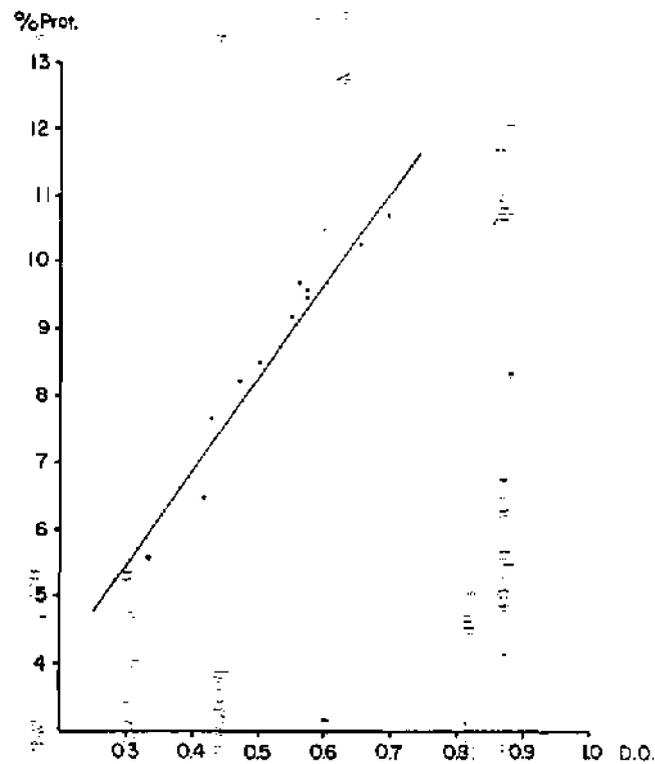


Fig. 2 - Relação entre a D.O. obtida pelo método rápido de biureto e a porcentagem de proteína obtida pelo processo de Kjeldahl em mistura de farinha de trigo e milho.