

Switzerland: World Health Organization, 1998.

WOLF, B. The determination of boron in soil extracts, plant materials, composts, manures, water and nutrient solutions, **Soil Science and Plant Analysis**, 2 (5) 363-374 (1971).

CAPÍTULO 9 - ANÁLISE DE ALIMENTOS

Ana Rita de Araujo Nogueira¹

Ari Luiz de Castro²

Carlos Roberto Bernardi³

Dirceu Luís Zanotto³

Gilberto Batista de Souza¹, Coordenador

Gustavo Eugênio Gerhard Barrocas⁴

Heloísa Carneiro⁵

Janice Ribeiro Lima⁶

José Roberto Ferreira⁵

Mônica Martini⁷

Nilva Gaudereto Martins⁵

Sidnéa Cordeiro de Freitas⁸

Valéria Saldanha Bezerra⁹

1. INTRODUÇÃO

A análise química do alimento é fundamental quando o objetivo é a avaliação da sua qualidade, a partir de informações sobre os teores de nutrientes, para viabilizar dietas balanceadas. A quantificação dos nutrientes presentes nos alimentos para animais proporciona maior conhecimento do seu valor nutritivo, possibilita adequar dietas mais eficientes e racionaliza a utilização dos recursos.

As metodologias descritas nesse capítulo foram catalogadas com base em informações fornecidas pelos responsáveis pelos laboratórios de nutrição animal e humana nos diferentes centros da Embrapa. São procedimentos já testados e publicados em outras fontes e maiores detalhes poderão ser obtidos nas referências bibliográficas de cada procedimento.

¹ Embrapa Pecuária Sudeste; ² Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP Campus Pirassununga; ³ Embrapa Suínos e Aves; ⁴ Embrapa Gado de Corte; ⁵ Embrapa Gado de Leite; ⁶ Embrapa Agroindústria Tropical; ⁷ Coordenadoria de Defesa da Agricultura, CDA; ⁸ Embrapa Agroindústria de Alimentos; ⁹ Embrapa Amapá.

2. DETERMINAÇÃO DE MATÉRIA SECA

2.1. Procedimento convencional

2.1.1. APLICAÇÃO

Produtos e subprodutos de origem animal, vegetal e mineral, e rações e concentrados.

2.1.1 PRINCÍPIO

O método é baseado na evaporação da água presente na amostra, pela ação do calor. Sua determinação é importante, porque os resultados de outras determinações são corrigidos e fornecidos com base na matéria seca (SILVA & QUEIROZ, 2002, COMPÊNDIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 1998). O teor de matéria seca, em percentagem, é obtido pela diferença das pesagens entre o recipiente com a amostra úmida e o recipiente com a amostra seca. O termo "amostra seca ao ar" – ASA refere-se à secagem a 65°C em estufa com circulação forçada de ar, enquanto a "amostra seca em estufa" – ASE, refere-se à secagem em estufa a 105°C, após a amostra ter sido inicialmente secada a 65°C (ASA) e moída. A "matéria seca" é o resultado da multiplicação entre as secagens: ASA x ASE.

2.1.3. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

- Balança (precisão de 0,01 g).
- Balança analítica (precisão de 0,0001 g).
- Estufa de secagem com circulação forçada de ar (65°C).
- Estufa de secagem (105°C).
- Dessecador, com cloreto de cálcio e sílica-gel como indicador de umidade.
- Recipiente para pesagem da ASA - sacos de papel com capacidade para 3 kg, para folhas e grãos, ou formas de vidro refratário (tipo Pyrex®), para amostras pastosas ou líquidas.
- Recipiente para pesagem da ASE - cadinho ou cápsula de porcelana, béquer de vidro, pesa-filtro ou cápsula de alumínio.

- Pinça de aço inoxidável.
- Espátula de aço inoxidável, meia cana.

2.1.4. REAGENTES E SOLUÇÕES

Não são empregados reagentes e soluções nesta determinação.

2.1.5. PROCEDIMENTO

2.1.5.1. Amostra seca ao Ar – ASA (secagem em estufa estufa a 65°C)

Pesar (precisão de 0,01 g) o recipiente que irá conter a amostra (saco de papel ou forma de vidro) - **M**₁. Obs.: O recipiente deve estar limpo e seco.

- Adicionar a amostra (aproximadamente 150 g), registrando a massa - **M**₂.
- Colocar o recipiente com a amostra em estufa com circulação forçada de ar, regulada para 65°C, por 72 h.
- Retirar da estufa, deixar esfriar no ambiente por 30 min e registrar a massa (precisão 0,01 g) – **M**₃. Obs.: Quando a umidade do ar for alta, é recomendável deixar a amostra esfriar em dessecador.
- Reservar a amostra seca para moagem e posterior determinação da ASE.

2.1.5.2. Amostra seca em estufa a 105°C - ASE

- Secar, durante 2 h (em estufa a 105°C), o recipiente em que será colocada a amostra.
- Retirar o recipiente da estufa, colocar em dessecador por 1 h e pesar (precisão de 0,0001 g) – **M**₄.
- Adicionar de 1 a 5 g da amostra ao recipiente e pesar novamente – **M**₅.
- Transferir o recipiente com a amostra para estufa a 105°C, até massa constante (aproximadamente 6 h). Pode-se pesar maior número de amostras e colocá-las na estufa ao final do expediente, retirando-as na manhã seguinte. Obs.: A abertura freqüente da estufa ou a presença de outros materiais úmidos ou com teor elevado de umidade na estufa pode requerer tempo maior para secagem das amostras.
- Retirar da estufa, deixar resfriar em dessecador por 1 h e pesar – **M**₆.

2.1.5.3. Cálculos

ASA:

$$ASA (\%) = \frac{(M_3 - M_1) \times 100}{(M_2 - M_1)}$$

M₁ = massa (g) do recipiente;

M₂ = massa (g) do recipiente mais a amostra antes de secar;

M₃ = massa (g) do recipiente mais a amostra seca.

ASE:

$$ASE (\%) = \frac{(M_6 - M_4) \times 100}{(M_5 - M_4)}$$

M₄ = massa (g) do recipiente;

M₅ = massa (g) do recipiente mais a amostra seca a 65°C;

M₆ = massa (g) do recipiente mais a amostra seca a 105°C.

Matéria seca (MS):

$$MS (\%) = \frac{ASA \times ASE}{100}$$

OBSERVAÇÕES

- 1. Na determinação da ASA, se a balança possuir o recurso de tara, é conveniente utilizá-lo, pois elimina-se a massa inicial do recipiente, facilitando as anotações e os cálculos posteriores. Assim, quando se calcula a percentagem da ASA, basta fazer as adequações necessárias na fórmula descrita no item anterior.*
- 2. A maioria dos resultados das determinações realizadas por laboratórios da área de Nutrição Animal e Alimentos é expressa em percentagem da matéria seca. Para isso, é necessária a determinação da percentagem de ASE, mesmo que a matéria seca não tenha sido solicitada.*
- 3. Para alguns tipos de amostra, por exemplo, de silagem, não se deve empregar a temperatura de 65°C para a determinação da percentagem da ASA, pois esse tipo de amostra normalmente contém compostos que podem ser volatilizados nessa temperatura. Nesse caso, recomenda-se empregar temperatura em torno de 50°C.*
- 4. Umidade = 100 - matéria seca (%).*

2.2. DETERMINAÇÃO DE MATÉRIA SECA E UMIDADE EM PLANTAS EMPREGANDO RADIAÇÃO MICROONDAS

2.2.1. PRINCÍPIOS

Alternativa ao método convencional de secagem, emprega o aquecimento por radiação microondas para a secagem do material (SOUZA et al., 2002).

2.2.2. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

- a) Forno de microonda doméstico
- b) Balança analítica
- c) Frasco dessecador com placa de porcelana e sílica gel com indicador de umidade
- d) Bequers de polietileno ou polipropileno, capacidade de 250 mL e de 1000 mL
- e) Balão volumétrico, capacidade de 1000 mL

2.2.3. PROCEDIMENTO

2.2.3.1. Calibração do forno de microondas

A calibração do forno de microondas é importante, pois possibilita verificar a reprodutibilidade de aquecimento do forno e também conhecer o valor da temperatura e potência real de trabalho (em geral a potência nominal máxima fornecida pelos fabricantes de fornos domésticos é de 700 W).

As seguintes etapas devem ser executadas:

- a) Equilibrar um grande volume de água à temperatura ambiente ($23 \pm 2^\circ\text{C}$).
- b) Pesar 1 kg de água ($1000,0 \text{ g} \pm 0,1 \text{ g}$) em um frasco ou bequer de fluorcarbono (polipropileno ou policarbonato), ou algum outro material que não absorva significativamente energia microondas (vidros absorvem microondas e não são recomendados). Pode-se usar a medida de 1,0 L de água em balão volumétrico.
- c) Meça a temperatura inicial da água (T_i), que deve ser de $23 \pm 2^\circ\text{C}$, medida com precisão de $\pm 0,05^\circ\text{C}$.
- d) Coloque o bequer, coberto, para aquecer no prato do forno de microondas durante 2 min (120 s) à potência indicada como máxima (100%).
- e) Remova o bequer e agite a água vigorosamente. Registre a temperatura (T_f) dentro de no máximo 30 segundos após terminado o aquecimento, com precisão de \pm

0,05 °C.

- f) Substitua a água aquecida por outra à temperatura ambiente.
- g) Repita as etapas 2, 3, 4, 5 e 6 para 80, 60, 40 e 20% de potência.
- h) Devem ser realizadas três medidas a cada potência medida.
- i) Calcule a potência da unidade de microondas de acordo com a equação:

Com o emprego das condições experimentais descritas, 2 min e 1 kg de água destilada (capacidade calorífica a 25 °C = 0,9997 cal g⁻¹ °C⁻¹), a equação de calibração pode ser simplificada para:

$$P = 34,86\Delta T$$

Essa equação deve ser avaliada periodicamente. Caso uma mudança significativa for detectada (± 10 W), a calibração deve ser refeita.

Observação: A tensão nominal da rede não deve apresentar variação superior a ± 2 V, para que a calibração seja correta. Estabilizador deve ser utilizado caso haja instabilidade na rede elétrica.

2.2.3.2. Determinação dos teores de matéria seca (%MS) e de umidade (%UM) em amostras de silagem e de forragens frescas.

- a) Pesar o bequer de 250 mL (massa A).
- b) Pesar 20 g de silagem ou capim picado (massa B).
- c) Secar em forno de microondas doméstico com a seguinte rampa de aquecimento: 3 min a 165 watts, 6 min a 626 watts e 5 min a 338 watts.

OBSERVAÇÃO

Valores que se referem a, respectivamente: 20 %, 100 % e 50 % da potência do forno de microondas utilizado durante o desenvolvimento deste método que, após calibração, apresentou a seguinte equação:

$$P \text{ (watts)} = 5,755 \times (\% \text{ potência}) + 50,300;$$

$$r^2 = 0,9963.$$

- d) Retirar os frascos do forno, esperar esfriar em dessecador e pesar a amostra seca (massa C).
- e) O procedimento deve ser realizado em duplicata.

Cálculos:

$$MS (\%) = \frac{(C - A) \times 100}{(B - A)}$$

$$UM (\%) = 100 - MS (\%)$$

OBSERVAÇÕES

- 1. Deve ser observado que este método é proposto apenas para verificação dos teores de umidade, razão pela qual pode ser empregado forno de microondas doméstico. Nunca retirar a proteção metálica existente na porta do equipamento. O uso deste tipo de forno para o preparo de amostras, empregando ácidos, deve ser evitado, por razões de segurança. Quando um ácido como o ácido nítrico é empregado na digestão de amostra em microondas, seja em frascos abertos ou frascos fechados equipados com sistema de liberação de pressão, ocorre o desprendimento de gases que corroem os sistemas de segurança que protegem o magnetron e desligam o equipamento quando a porta está aberta, podendo expor o operador à energia das microondas.*
- 2. Atualmente existem no mercado diversos fabricantes que fornecem fornos específicos para utilização em laboratórios. Esses equipamentos são dotados de todas as proteções adequadas para um funcionamento seguro. Existem inúmeras recomendações operacionais específicas, fornecidas pelos fabricantes dos equipamentos de uso em laboratórios. Esses cuidados estão fora do escopo desse documento, sugerindo-se a consulta de publicações específicas sobre operação segura dos equipamentos e frascos adequados para cada necessidade.*

3. DETERMINAÇÃO DE CINZAS

3.1. APLICAÇÃO

Produtos e subprodutos de origem animal, vegetal e mineral, rações e concentrados.

3.2. PRINCÍPIO

A amostra é calcinada em forno do tipo mufla, para eliminar a matéria orgânica. Por diferença de pesagem entre a massa do cadinho vazio e a massa do cadinho com o resíduo, encontra-se o teor das cinzas (SILVA & QUEIROZ, 2002, COMPÊNDIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 1998).

3.3. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

- Estufa para secagem de material.
- Forno do tipo mufla.
- Balança analítica (precisão de 0,0001 g).
- Dessecador com cloreto de cálcio e sílica-gel como indicador de umidade.
- Pinça de metal.
- Cadinho ou cápsula de porcelana (capacidade de aproximadamente 50 mL).
- Espátula de aço inoxidável, meia cana.

3.4. REAGENTES E SOLUÇÕES

Não são empregados reagentes ou soluções.

3.5. PROCEDIMENTO

- Colocar o cadinho ou a cápsula de porcelana (previamente lavado e secado em estufa a 105°C por 1 h), em forno do tipo mufla a 550-600°C durante 30 min.
- Retirar do forno, deixar resfriar em dessecador por 1 h e pesar = M_1 .
- Transferir de 1 a 2 g da amostra para o cadinho ou a cápsula e pesar = M_2 .
- Levar ao forno do tipo mufla a 300°C por 30 min. Em seguida, aumentar lentamente a temperatura até 600°C. Deixar nessa temperatura durante 4 h.
- Desligar e esperar que a temperatura do forno atinja aproximadamente 100°C.
- Transferir a amostra para dessecador, deixar esfriar por 1 h e pesar = M_3 .

Cálculos

$$\text{Cinzas (m/m) (\%)} = \frac{(M_3 - M_1) \times 100}{(M_2 - M_1)}$$

M_1 = massa (g) do cadinho ou da cápsula vazio;

M_2 = massa (g) do cadinho ou da cápsula mais a amostra;

M_3 = massa (g) do cadinho ou da cápsula mais o resíduo, após calcinação.

OBSERVAÇÕES

- 1. Sempre manusear o cadinho ou a cápsula com a pinça de metal.*
- 2. Normalmente, expressa-se o resultado corrigido, tendo-se como base de correção a percentagem de matéria seca a 105°C. Para correção, basta multiplicar o resultado (percentagem de cinzas) por 100 e dividir pela percentagem de matéria seca a 105°C (ASE, item 1.5.3).*
- 3. Para amostras com alto teor de gordura, deve-se fazer pré-extração da gordura antes da incineração. Para isso, adicionar à amostra duas ou três gotas de ácido nítrico concentrado (HNO_3) e deixar sobre chapa aquecedora, até secagem do ácido. Esse procedimento evita que haja perda de material em função de eclosão da amostra.*
- 4. O resíduo obtido pode não representar toda a substância inorgânica presente na amostra; alguns sais sofrem redução ou volatilização na faixa de temperatura empregada.*
- 5. Quando não se obtiver cinzas claras após o período mínimo de calcinação, recomenda-se a adição de duas a três gotas de HNO_3 ou de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a 30% (m/v) e o retorno ao forno do tipo mufla por mais 1 h.*
- 6. Como alternativa, a pré-queima pode ser efetuada em placa aquecedora ou chama, antes de ser transferida ao forno do tipo mufla (550°C – 600°C).*

4. ENERGIA BRUTA

4.1. PROCEDIMENTO CONVENCIONAL

4.1.1. APLICAÇÃO

Amostras de alimento em geral.

4.1.2. PRINCÍPIO

Determinação da quantidade de calor liberada, em kcal/kg ou cal/g, com a oxidação da

amostra em atmosfera saturada de oxigênio sob condições adiabáticas (25 a 30 atm) (SILVA & QUEIROZ, 2002).

4.1.3. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

Balança analítica.

Calorímetro adiabático.

4.1.4. PROCEDIMENTO

- Verificar as condições indicadas pelo fabricante quanto ao abastecimento de água do calorímetro. Certificar-se da presença de água no sistema.
- Ligar o calorímetro à rede elétrica (verificar a voltagem correta) e proceder às condições de aquecimento indicadas pelo fabricante. Observar se há saída de água pelo canal de escoamento.
- **ATENÇÃO:** se não houver fluxo de água no sistema, não ligar o aquecedor e nem o refrigerador.
- Pesar cerca de 0,8 g de amostra, utilizando prensa apropriada (peletizador). **ATENÇÃO:** Nunca ultrapassar 1,0 g de amostra, principalmente se o material a analisar for pouco conhecido. Caso isso aconteça, poderá ocorrer a liberação de grande quantidade de energia calorífica no momento da queima da amostra, ocasionando até mesmo a explosão da bomba dentro do calorímetro.
- Pesar a cápsula de amostra (acessório do calorímetro) = P_1 .
- Transferir a amostra previamente prensada para a cápsula e pesar = P_2 .
- Cortar 10 cm do fio (platina ou algodão) que será empregado como fusível e inserí-lo em local previamente definido, entre os eletrodos da bomba calorimétrica.
- Colocar a cápsula com a amostra no eletrodo apropriado, fazendo com que a extremidade do fusível toque a superfície da amostra, porém sem deixar que toque a borda da cápsula.
- Se o calorímetro estiver seco, adicionar cerca de 1 mL de água desionizada.
- Seguir os procedimentos indicados pelo fabricante para fechar e adicionar oxigênio ao sistema. Se o procedimento for manual, fechar cuidadosamente a bomba calorimétrica, para evitar a ocorrência de impactos fortes sobre a cápsula com a amostra.
- **ATENÇÃO:** a pressão de oxigênio deve ser ajustada para 30 atm. Jamais deverá ser

superior a 35 atm, evitando, com isso, possíveis explosões. O tubo alimentador de oxigênio deverá ser fechado antes de ser desconectado da bomba calorimétrica.

- Abrir o calorímetro e seguir os procedimentos indicados pelo fabricante para a introdução da bomba calorimétrica. Normalmente, deve ser utilizada pinça apropriada, procurando-se encaixar a bomba na parte circular do fundo do recipiente. Encaixar os conectores dos fios dos eletrodos do calorímetro nos adaptadores do cabeçote da bomba e colocar 2 L de água desionizada, com cuidado, dentro do recipiente.
- Ligar o calorímetro e aguardar que as temperaturas entrem em equilíbrio, o que normalmente é indicado no manual do equipamento.
- Após ser atingido o equilíbrio térmico, aguardar aproximadamente 4 min, acionar o acessório que provoca vibração (5 s), anotar a temperatura inicial (T_i) registrada pelo medidor de temperatura e acionar a ignição. O início da combustão será indicado por um dispositivo luminoso. Se isso não ocorrer, pode ser indício de falha na ignição, devendo ser verificado o circuito de ignição.
- Após o início da combustão, aguardar aproximadamente 9 min (intervalo necessário para novo equilíbrio entre as temperaturas do sistema); decorrido esse tempo, acionar o vibrador e anotar a temperatura final (T_f).
- Desligar, abrir o calorímetro e retirar dos cabeçotes os conectores dos fios dos eletrodos. Retirar a bomba do balde com a pinça; abrir a válvula de escape para despreendimento do oxigênio remanescente, bem como dos gases provenientes da queima do material. Retirar o cabeçote; remover a cápsula e lavá-la com água desionizada, recolhendo a água de lavagem em erlenmeyer de 125 mL. Proceder da mesma maneira com o cabeçote e a parte interna da bomba calorimétrica.
- Medir os pedaços remanescentes do fio que atuou como fusível durante a combustão.
- Titular, com solução de carbonato de sódio $0,0725 \text{ mol L}^{-1}$, a água de lavagem recolhida no erlenmeyer, usando solução de alaranjado de metila como indicador.

4.2. APLICAÇÃO PARA BOMBA CALORIMÉTRICA PARR® (MANUAL DE OPERAÇÕES)

4.2.1. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

- Estufa para secagem de material.

- Balança analítica.
- Peletizador
- Calorímetro adiabático PARR (*Parr Instrument Company, EUA*), com acessórios.
- Fusível metálico.
- Bureta de vidro, com capacidade de 50 mL.

4.2.2. REAGENTES E SOLUÇÕES

- Carbonato de sódio (Na_2CO_3), 0,0725 mol L⁻¹.
- Vermelho de metila, solução alcoólica, a 0,2% (v/v).

4.2.3. PROCEDIMENTO

- Abrir a torneira do abastecimento de água para o calorímetro e verificar se a torneira da célula purificadora de água está aberta; caso não esteja, abrí-la, girando-a $\frac{1}{4}$ de volta.
- Verificar se há água no sistema.
- Ligar o calorímetro à rede elétrica (110 V) e acionar o interruptor de controle manual do painel para posição quente (**hot**) e observar se há saída de água pelo cano de escoamento do calorímetro. Se houver escoamento constante, voltar a alavanca do interruptor para a posição central.
- **ATENÇÃO:** se não houver fluxo de água no sistema, não ligar o aquecedor e nem o refrigerador.
- Peletizar cerca de 0,8 g de amostra, utilizando prensa apropriada (peletizador). Nunca ultrapassar 1,0 g de amostra, principalmente se o material a analisar for pouco conhecido. Caso isso aconteça, poderá produzir, no momento da queima da amostra, grande quantidade de energia calorífica, levando, até mesmo, à explosão da bomba.
- Pesar a cápsula de metal (acessório do calorímetro) e anotar o valor (**M**₁).
- Colocar o pélete na cápsula de metal, pesar e anotar o valor (**M**₂).
- Cortar 10 cm de fusível metálico e instalar entre os eletrodos da bomba, fazendo um laço.
- Colocar a cápsula com a amostra no eletrodo apropriado, fazendo com que a extremidade do laço do fusível toque a superfície do pélete, porém sem deixar que o fusível metálico toque na borda da cápsula.

Se a bomba calorimétrica estiver seca, adicionar cerca de 1 mL de água desionizada. Colocar o cabeçote na bomba calorimétrica e fechar cuidadosamente, evitando que a cápsula com o pélete sofra impactos fortes.

Adaptar a válvula de entrada de gases à bomba calorimétrica e adicionar o oxigênio, lentamente, até 30 atm.

ATENÇÃO: a pressão jamais deverá ser superior a 35 atm, evitando, com isso, possíveis explosões. Quando atingidas as 30 atm, fechar os reguladores de pressão, retirar o oxigênio que fica no tubo que o conduz para a bomba, comprimindo a pequena alavanca da válvula de escape, localizada na parte inferior do regulador de pressão. Somente com esse procedimento será possível desconectar o tubo da bomba calorimétrica.

Abrir o calorímetro adiabático, colocando o balde em seu interior. Pegar a bomba com pinça apropriada e colocar dentro do balde, procurando encaixá-la na parte circular do fundo do balde. Encaixar os conectores dos fios dos eletrodos do calorímetro nos adaptadores do cabeçote da bomba e colocar 2 L de água desionizada, com cuidado, dentro do balde.

Ligar o calorímetro e aguardar que as temperaturas do banho-maria e do balde entrem em equilíbrio. Isso é sinalizado pelas luzes âmbar e branca, que passam a se acender alternadamente, com intervalos de 5 seg, aproximadamente.

OBS.: A água do balde deve ter a temperatura mínima do termômetro do balde, sendo indicada a temperatura de aproximadamente 25°C.

Se houver diferença para menos, de mais de 3°C no termômetro do calorímetro, em relação ao termômetro da bomba, acionar a alavanca do controle manual para posição quente (**hot**) e assim será introduzida água aquecida, fazendo com que as temperaturas entrem em equilíbrio.

Se a diferença for de mais de 3°C acima da temperatura do termômetro da bomba, acionar a alavanca para a posição fria (**cold**), assim, será introduzida água fria no calorímetro e o equilíbrio será estabelecido.

Se depois de obtido o equilíbrio das temperaturas for observado, ainda, diferença superior a 0,05°C, estabelecer o equilíbrio dentro desse limite, destravando e girando o botão do controle de balanço (**balance**), no painel, para a direita ou para a esquerda.

Depois de estabelecido o equilíbrio das temperaturas, esperar 4 min, acionar o

vibrador por 5 seg, anotar a temperatura inicial (T_i) do termômetro da bomba e acionar o dispositivo de ignição. O piloto deve acender, indicando que houve o início da combustão. Caso a lâmpada não acenda, provavelmente não houve ignição (verificar o problema no circuito de ignição).

- Após o início da combustão, aguardar por 9 min (esse intervalo é suficiente para que ocorra novamente o equilíbrio das temperaturas do calorímetro e do balde); decorridos 9 min, acionar o vibrador e anotar a temperatura final (T_f) do termômetro do balde.
- Desligar, abrir o calorímetro e retirar dos cabeçotes os conectores dos fios dos eletrodos. Retirar a bomba do balde com a pinça; abrir a válvula de escape para despreendimento do oxigênio remanescente, bem como outros gases provenientes da queima do material. Retirar o cabeçote; remover a cápsula e lavá-la com água desionizada, recolhendo a água de lavagem em erlenmeyer de 125 mL. Proceder da mesma maneira com o cabeçote e a parte interna da bomba calorimétrica.
- Medir os pedaços remanescentes do fio que atuou como fusível durante a combustão.
- Titular, com solução de carbonato de sódio $0,0725 \text{ mol L}^{-1}$, a água de lavagem recolhida no erlenmeyer, usando solução de alaranjado de metila como indicador.

Cálculo

$$EB \text{ (cal/g)} = \frac{[E \times (T_f - T_i) - (\text{Cal}_{\text{fus}} + \text{Cal}_{\text{Na}_2\text{CO}_3})] \times 100}{P_2 - P_1}$$

Onde:

EB (cal/g) = energia bruta, em calorias por grama; **E** = equivalente hidrotérmico da bomba calorimétrica; **T_f** e **T_i** = temperaturas final e inicial; **Cal_{fus}** = caloria do fusível queimado (centímetro de fusível queimado x 2,3); **Cal_{Na₂CO₃}** = caloria referente ao volume gasto ($V_{\text{Na}_2\text{CO}_3} \times 1,0$); **M₂** = massa da cápsula de metal mais o pélete (em gramas); **M₁** = massa do pélete (em gramas).

OBSERVAÇÕES

1. Normalmente, expressa-se o resultado corrigido, tendo-se como base de correção a matéria seca a 105°C . Para correção, basta multiplicar o resultado da percentagem de EB (cal/g) por 100 e dividir pela

percentagem da matéria seca a 105°C.

- 2. O fator "E" da fórmula é obtido empregando o procedimento descrito anteriormente, fazendo a substituição do pélete da amostra por uma pastilha (comprimido) padrão de ácido benzóico (fornecida pelo fabricante do calorímetro). A pastilha tem, como valor fixo, energia equivalente a 6,318 cal/g. Substituindo esse valor na fórmula de cálculo já apresentada, pode ser determinado o fator "E".*
- 3. Existe, como acessório opcional, um controlador para o calorímetro adiabático do fabricante PARR, que realiza diversas funções, facilitando a operação do calorímetro e os cálculos.*

5. DETERMINAÇÃO DE EXTRATO ETÉREO

5.1. APLICAÇÃO

Produtos ou subprodutos de origem animal e vegetal, rações e concentrados, desde que não submetidos a processo de extrusão.

5.2. PRINCÍPIO

O éter de petróleo, entre outros solventes, tem como propriedade a grande capacidade de solubilizar gorduras e outras substâncias, tais como fosfatídeos, esteróis (colesterol) e clorofila. Explorando essa propriedade, é feita a extração desses compostos presentes na amostra, sendo o teor de extrato etéreo determinado pela diferença de massas (AOAC, 1980; COMPÊNDIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 1998; SILVA & QUEIROZ, 2002).

5.3. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

- Balança analítica.
- Estufa de secagem (105°C).
- Aparelho do tipo Goldfish ou do tipo Soxhlet, com acessórios, para extração de gordura e outros compostos solúveis em éter de petróleo.
- Papel-filtro qualitativo (filtração rápida) ou cartucho de cerâmica ou de celulose.
- Dessecador, com cloreto de cálcio e sílica-gel como indicador de umidade.

- Pinça de metal.
- Algodão hidrófilo desengordurado.

5.4. REAGENTES E SOLUÇÕES

Éter de petróleo, ponto de ebulição de 30 – 60°C, p.a.

5.5. PROCEDIMENTO

- Preparar o papel-filtro, enrolando-o e dobrando-o, até formar uma espécie de cartucho, de tamanho compatível com o acessório receptor de amostra do aparelho de Goldfish ou do extrator de Soxhlet; ou usar cartucho de cerâmica ou de celulose comercialmente disponível.
- Pesar de 2 a 5 g da amostra (M_1), transferir para o cartucho ou para o papel-filtro. No caso de se usar o cartucho, fechar sua extremidade superior com algodão hidrófilo desengordurado. No caso de usar o papel-filtro, pesar a amostra diretamente nele, enrolando-o, de forma que a amostra fique em seu interior.
- Secar o cartucho com a amostra em estufa a 105°C durante 2 h ou até massa constante.
- Retirar e deixar esfriar em dessecador até atingir a temperatura ambiente.
- Colocar o cartucho dentro do acessório receptor de amostra e adaptá-lo ao equipamento de Goldfish. Usando o extrator de Soxhlet, colocar o cartucho ou o papel-filtro dentro da parte intermediária do extrator.
- Secar o copo de Goldfish ou o balão do extrator de Soxhlet em estufa a 105°C por 1 h; em seguida, deixar esfriar em dessecador, até atingir a temperatura ambiente, e pesar (M_2).
- Adicionar quantidade suficiente de éter de petróleo ao copo (equipamento de Goldfish) ou ao balão extrator (extrator de Soxhlet), conectando-o ao equipamento ou ao extrator. Ajustar o conjunto ao condensador.
- Abrir a torneira para refrigeração do condensador e iniciar o aquecimento, de tal forma que se obtenha de duas a quatro gotas por segundo.
- Manter o refluxo por no mínimo 6 h.
- Recuperar o éter em frasco apropriado.
- Completar a secagem do copo de Goldfish” ou do balão extrator mais o extrato em