

DETERMINAÇÃO DE AMIDO EM SALSICHAS: COMPARAÇÃO ENTRE OS MÉTODOS DE FEHLING E DE SOMOGYI-NELSON E AVALIAÇÃO DE METODOLOGIA PARA EXTRAÇÃO DO AMIDO*

Sabria AUED**
José Byron de CARVALHO**
Mário TAVARES**
Ana Maria ZANELATTO**
Liliana Brancacio BACETTI**

RIALA6/687

AUED, S.; CARVALHO, J.B.; TAVARES, M.; ZANELATTO, A.M. & BACETTI, L.B.
— Determinação de amido em salsichas: comparação entre os métodos de Fehling e de Somogyi-Nelson e avaliação de metodologia para extração do amido. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 50 (1/2): 251-256, 1990.

RESUMO: Visando comparar os métodos de Fehling (titulométrico) e de Somogyi-Nelson (espectrofotométrico) para determinação de amido em embutidos, foram analisadas cinco amostras de salsichas comerciais e sete especialmente elaboradas, contendo de 0 a 10% de fécula de mandioca (fonte de amido). Quando a formulação continha de 3 a 10% de fécula, os resultados foram similares pelos dois métodos, porém, entre 0 e 1%, não foi possível, pelo método de Fehling, a determinação de amido, enquanto em torno de 2% conseguiram-se resultados confiáveis apenas em parte das amostras analisadas. Por sua vez, o método espectrofotométrico revelou-se reproduzível, além de simples e rápido, para toda a faixa entre 0 e 10% de amido e, em particular, quando se trabalhou com baixas concentrações de amido (menor que 3%). Foi testada metodologia para extração de amido em salsichas, baseada em sua fase inicial (desengorduramento e eliminação de açúcares simples) no trabalho de GLOVER e col.⁷ Para avaliar a eficiência da extração do amido, foram realizados testes de recuperação utilizando cinco formulações de salsichas, com quantidades pré-estabelecidas de amido (entre 1 e 10%), a partir de uma formulação sem amido adicionado. Os resultados revelaram que, para a formulação com cerca de 9%, a eficiência média de recuperação foi de 85% e, para as demais formulações, superior a 90%, resultado bastante satisfatório.

DESCRITORES: Salsicha, determinação e extração de amido em; amido em salsicha, determinação e extração; métodos, estudo comparativo.

INTRODUÇÃO

A salsicha é um produto cárneo emulsionado, isto é, uma mistura homogênea de tecido muscular, sangue, vísceras, gordura e água, à qual são adicionados sais, condimentos e constituintes não-cárneos, como o amido^{8,10,18}.

O emprego do amido e seus derivados objetiva auxiliar a retenção de água e dar liga ao produ-

to^{8,10,13}. A sua adição em salsichas e em outros embutidos é permitida pela legislação brasileira, desde que sejam respeitados certos limites. No caso de salsichas, esse limite é de 2%⁴. Entretanto, visando à redução do custo de produção, alguns fabricantes adicionam quantidades superiores à permitida^{10,21}. Esta prática configura um crime contra a Saúde Pública².

Por sua vez, a gordura e a proteína, devido ao

* Realizado na Seção de Óleos, Gorduras e Condimentos do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP. Apresentado no 12º Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Rio de Janeiro, 1989.
** Do Instituto Adolfo Lutz.

fato de estarem presentes em grande quantidade na salsicha, constituem-se em interferentes para a extração e dosagem do amido. Além destes ingredientes, outros, como a proteína de soja texturizada (PTS) e os condimentos, também causam interferências nas referidas operações, porque apresentam, respectivamente, quantidades consideráveis de açúcares simples⁵ e de amido em sua constituição²². Já os métodos analíticos oficiais para extração e dosagem, envolvem muitas operações e estão sujeitas a erros por parte do analista^{1,3}.

Em face do acima exposto, para dosar de maneira correta o amido adicionado são necessárias extrações eficientes dos interferentes (gordura, proteína e açúcares simples), bem como considerar a presença do amido proveniente dos condimentos. Em muitos laboratórios, a dosagem final dos açúcares redutores liberados, após hidrólise ácida do amido, é efetuada pelo método titulométrico de Fehling^{3,11} que, no entanto, apresenta dificuldades técnicas nos trabalhos rotineiros de análise de embutidos, especialmente salsichas. Isto ocorre devido aos baixos teores de amido e outros açúcares presentes naquela classe de alimento, e à presença de interferentes em grande proporção.

Devido às citadas interferências, têm sido estudados por diversos pesquisadores novos métodos, mais eficazes, para extração e dosagem do amido em salsichas, entre os quais o método enzimático, bastante específico para a determinação dos açúcares e, particularmente, do amido em embutidos^{6,7,9,12,14,15,16,20}.

No presente trabalho propõe-se comparar o método titulométrico de Fehling (oficial) com o de Somogyi-Nelson, espectrofotométrico^{17,19}, na dosagem de amido em amostras de salsichas, visto ser este apropriado para dosagem de baixas concentrações de açúcares redutores, baseado em leitura colorimétrica de um complexo estável, e empregar a maior parte dos reagentes utilizados no método de Fehling. Propõe-se, ainda, avaliar a metodologia para extração prévia do amido, baseando-se, em sua etapa inicial, no trabalho de GLOVER e col.⁷

MATERIAIS E MÉTODOS

Materiais

Para a etapa de comparação entre os dois métodos foram utilizadas cinco amostras de salsichas obtidas no comércio e sete, especialmente elaboradas para a pesquisa, contendo de 0 a 10% de fécula de mandioca (fornecendo cerca de 85% de amido).

Amostras dos principais ingredientes normalmente empregados na formulação de salsichas, contendo consideráveis teores de açúcares, tais como pimenta preta, pimenta branca, PTS e glicose, foram analisadas quanto ao percentual de açúcares redutores totais e amido. Tais ingredientes foram empregados na elaboração das formulações para os testes de recuperação.

Para a execução dos testes de recuperação, visando à avaliação de metodologia para extração do amido, partiu-se de uma formulação de salsicha, especialmente elaborada, que não continha amido adicionado, à qual foram acrescentadas quantidades conhecidas de amido solúvel "Merck". No total, foram preparadas cinco formulações, com 1, 2, 4, 5 e 10% de amido.

Métodos

Para a comparação entre os dois métodos, partiu-se de 10 g das amostras previamente homogeneizadas. As amostras foram desengorduradas, hidrolizadas e clarificadas, segundo as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz¹¹, enquanto a dosagem pelo método espectrofotométrico utilizou os reagentes de Somogyi e Nelson^{17,19} e seguiu o procedimento abaixo:

Método de Somogyi-Nelson

Equipamento: espectrofotômetro UV-visível, marca Bausch & Lomb, feixe simples.

Reagentes:

Reativo do Somogyi ou reativo cúprico — 25 ml do reativo A + 1 ml do reativo B.

Reativo A : Dissolva 25 g de carbonato de sódio, 25 g de sal de Rochelli (tartarato duplo de sódio e potássio), 20 g de bicarbonato de sódio e 200 g de sulfato de sódio anidro em 800 ml de água. Complete o volume para 1.000 ml, em balão volumétrico.

Reativo B : Prepare uma solução a 15% de sulfato de cobre penta-hidratado, contendo uma ou duas gotas de ácido sulfúrico concentrado.

Reativo de Nelson : Dissolva 25 g de molibdato de amônio em 450 ml de água destilada. Adicione 21 ml de ácido sulfúrico concentrado, agite e adicione 2 g de arseniato de sódio heptahidratado, dissolvido em 25 ml de água destilada. Deixe em banho termostatizado a 37°C, de 24 a 48 horas.

Curva-padrão : Pipete, para tubos de Folin-Wu, as seguintes alíquotas de uma solução-estoque de glicose 250 µg/ml: 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 e 1,0 ml.

Adicione 1 ml do reativo cúprico, deixe em banho-maria fervente por 20 minutos. Esfrie e adicione 1 ml do reativo de Nelson. Complete o volume até a primeira marca do tubo de Folin-Wu (12,5 ml). Meça a transmitância a 500 nm, usando um "branco" para a calibração do espectrofotômetro.

Procedimento : Transfira 1 ml do hidrolisado, segundo as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz¹¹, após adequada diluição, para um tubo de Folin-Wu. Adicione os reativos de Somogyi-Nelson, procedendo conforme o descrito para elaboração da curva-padrão. Determine a concentração de glicose em µg/ml, a partir da curva-padrão.

Método de Extração e Dosagem de Amido

Extração de gordura e dos açúcares simples : o método desenvolvido nesta etapa baseou-se no trabalho de GLOVER e col.⁷, conforme o descrito abaixo.

Equipamento : centrífuga marca "Fanen", modelo 205 N/R.

Reagentes : Solução de etanol/éter de petróleo (1 + 3)

Etanol a 80%, a 80°C.

Procedimento : Pese 1 g da amostra homogeneizada em tubo de centrífuga de 15 ml. Adicione 10 ml de solução de etanol/éter de petróleo (1 + 3) e centrifugue a 2.500 r.p.m. por cinco minutos. Despreze o sobrenadante. Repita o procedimento anterior. Adicione 10 ml de etanol a 80%, a 80°C, ao resíduo e centrifugue a 2.500 r.p.m. por cinco minutos. Despreze o sobrenadante. Repita a extração alcoólica. Seque o resíduo em estufa a 70°C por 20 minutos.

Dosagem do amido : Transfira o resíduo obtido no tubo de centrífuga para um frasco Erlenmeyer de 500 ml, com boca esmerilhada. Adicione 100 ml de água destilada e 5 ml de ácido clorídrico concentrado. Hidrólise em refluxo por uma hora e meia. Neutralize, clarifique o hidrolisado e dose os açúcares redutores totais pelo método de Somogyi-Nelson, conforme descrito anteriormente. Calcule o teor de amido multiplicando o valor obtido em glicose por 0,9, que é o fator de conversão de glicose para amido.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos na determinação do amido nas amostras de salsichas, pelos métodos de Fehling e de Somogyi-Nelson, encontram-se na tabela 1.

TABELA 1

Porcentagem de amido em amostras de salsichas analisadas.*

AMOSTRAS	Métodos					
	Fehling			Somogyi-Nelson		
	\bar{x}	s	cv	\bar{x}	s	cv
A	0,00** ±	0,00	0	0,45 ±	0,01	2
B	0,00** ±	0,00	0	0,80 ±	0,02	2
C	0,00** ±	0,00	0	1,15 ±	0,01	1
D	1,51** ±	1,07	71	2,24 ±	0,05	2
E	1,60 ±	1,13	71	2,55 ±	0,04	2
F	3,14 ±	0,13	4	3,25 ±	0,15	5
G	3,35 ±	0,03	1	3,33 ±	0,05	1
H	4,30 ±	0,05	1	4,36 ±	0,05	1
I	5,72 ±	0,10	2	5,54 ±	0,06	1
J	6,42 ±	0,20	3	6,25 ±	0,05	1
K	9,26 ±	0,21	2	9,71 ±	0,18	2
L	9,01 ±	0,29	3	9,01 ±	0,42	5

Nota: As amostras E, G, H, J, K são comerciais.

* Média de três determinações dos valores obtidos para açúcares redutores totais, convertidos em amido, pelo fator 0,9.

** Não foi possível observar o ponto de viragem na titulação do reativo de Fehling ou foi gasto um volume superior a 100 ml.

TABELA 2

Teores de açúcares redutores totais e amido presentes em alguns ingredientes da formulação de salsichas.

Ingredientes	Açúcares redutores (%)*	Amido (%)**
Pimenta branca	69,10	62,19
Pimenta preta	61,47	55,32
Proteína texturizada de soja	22,67	—

* Determinados pelo método de Fehling (titulométrico).

** Valor obtido dos açúcares redutores totais, em glicose, multiplicado pelo fator 0,9.

TABELA 3

Porcentagem de recuperação do amido adicionado às salsichas. (Métodos: Extração, Glover modificado; dosagem, Somogyi-Nelson).

Amido adicionado %	Amido realmente adicionado* %	Amido obtido experimentalmente, (P)** %	P-B***	Recuperação de amido %		
				\bar{x}	s	cv
1,00	0,90	1,92	0,86	96	5	5
2,00	1,80	2,78	1,72	95	2	2
4,00	3,60	4,54	3,48	97	2	2
5,00	4,50	5,58	4,52	101	1	1
10,00	9,00	8,70	7,64	85	2	2

* O amido utilizado, marca Merck, continha 10% de umidade.

** Média de três determinações.

*** Teor de amido presente no "branco" (B = 1,06%)
B = "branco".

Comparando os resultados da tabela 1, verifica-se que os resultados obtidos pelos dois métodos são similares, quando as salsichas continham de 3 a 10% de amido.

Pelo método de Fehling, para as amostras contendo de 0 a 1% de amido, não foi possível a sua determinação, enquanto, em torno de 2%, conseguiram-se resultados confiáveis apenas em parte das amostras analisadas. Neste caso, os coeficientes de variação (cv) foram bastante elevados. A titulação do reativo de Fehling foi prejudicada pelo aparecimento de colorações anormais, isto é, arroxeadas e, em alguns casos, marrons, o que dificultou ou até mesmo impossibilitou a visualização do ponto de viragem.

Por outro lado, o método espectrofotométrico revelou-se preciso, além de prático, principal-

mente quando se trabalhou com baixas concentrações do amido. Foi possível determiná-los nas amostras contendo de zero a 2%, com resultados reprodutíveis, ou seja, com baixos coeficientes de variação (cv).

Teste de recuperação

Considerando que alguns ingredientes da formulação de salsichas, como condimentos, fornecem quantidades apreciáveis de açúcares, inclusive amido, conforme tabela 2, foi necessário fazer um "branco" antes de realizar os testes de recuperação. O teor de amido determinado na massa de salsicha com todos os ingredientes, exceto adição de fécula de mandioca, foi de 1,06% (valor médio de 05 determinações).

Os resultados do teste de recuperação (tabe-

la 3) revelaram que, à exceção da formulação com 9% de amido adicionado, a eficiência de recuperação foi superior a 90% e os coeficientes de variação foram baixos, isto é, altamente satisfatórios. Para a formulação com 9% de amido, o valor médio de recuperação foi de 85%, com baixo coeficiente de variação, resultado que pode ser considerado bom.

CONCLUSÕES

O método de Somogyi-Nelson apresenta as seguintes vantagens em relação ao método de Fehling: reprodutibilidade, sensibilidade, simplicidade e rapidez, tornando-o aplicável em análises de rotina para o controle de qualidade de produtos cárneos, especialmente aqueles contendo teores baixos de amido (de 1 a 3%).

O método de Fehling revelou-se confiável

apenas em amostras de salsichas contendo mais de 3% de amido.

A extração do amido, baseada no trabalho de GLOVER e col.⁷ mostrou-se adequada para sua avaliação em salsichas.

O método de extração de amido e o de Somogyi-Nelson, associados, estabelecem uma metodologia rápida e eficiente para a determinação de amido em embutidos, particularmente salsichas.

Agradecimentos

À FRIGOBRÁS — Companhia Brasileira de Frigoríficos e ao Frigorífico Marba Ltda., pela elaboração de amostras de salsicha para a realização do presente trabalho.

RIALA6/687

AUED, S.; CARVALHO, J.B.; TAVARES, M.; ZANELATTO, A.M. & BACETTI, L.B. — Starch determination in sausages (*hot dogs*): comparison between the Fehling and Somogyi-Nelson methods and evaluation of methodology for starch extraction. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 50(1/2): 251-256, 1990

ABSTRACT: In order to compare the Fehling (titrimetric) and Somogyi-Nelson (spectrophotometric) methods for determination of starch in sausages, five samples of commercially available sausages (*hot dogs*) were analyzed. Other seven especially prepared samples containing manioc fecula as starch source in concentrations varying between 0 and 10% were also examined. Sausages with a starch concentration of 3 to 10% yielded similar results with both methods. With the Fehling's method it was not possible to detect starch at concentrations below 1% while at concentrations of about 2% the results were doubtful. On the other hand, the spectrophotometric method revealed itself accurate and of simple performance, being especially useful for determination of low concentrations of starch (less than 3%). Starch extraction from sausages based on the method of Glover and collaborators was evaluated by recovery tests carried out with five sausages with known starch content. The results showed that in samples containing about 9% of starch the mean recovery efficiency was 85% while in other ones it was up to 90%.

DESCRIPTORS: sausages (*hot dogs*), determination and extraction of starch; starch in sausages, determination and extraction; starch in sausages, methods of determination.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 14th ed. Arlington, Va. A.O.A.C., 1984. p. 442.
2. BRASIL — Leis, decretos, etc. — Decreto-lei nº 2848 de 07.12.40: Código Penal. *Diário Oficial*, Rio de Janeiro, 31 de dez. 1940. Seção I, 23911 - 34.
3. BRASIL — Leis, decretos, etc. — Portaria nº 01/84, do Laboratório Nacional de Referência Animal. *Diário Oficial*, Brasília, 11 jan. 1984. Seç. I, p. 527. Aprova método analítico para determinação quantitativa de amido em produtos cárneos.
4. BRASIL — Leis, decretos, etc. — Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (Aprovado pelo Decreto nº 30.691, de 29.03.52, alterado pelo Decreto nº 1.255 de 25.06.62). Brasília, Ministério da Agricultura, 1980. p 113-14.
5. ELDRIDGE, A.C.; BLACK, L.T. & WOLF, W.J. — Carbohydrate composition of soybean flours, protein concentrates, and isolates. *J. Agric. Food Chem.*, 27: 799-805, 1979.
6. GARCIA, E.; CORDENUNSI, B.R. & LAJOLO, F.M. — Determinação de amido em embutidos: comparação entre o método de Fehling e método enzimático. *Cienc. Tecnol. Aliment.* 5: 39-46, 1985.
7. GLOVER, W.; MERCHENBAUM, H. & CALDWELL, A. — Test for the determination of starch in meat food products. *J. Ass. Off. Anal. Chem.*; 49: 307-9, 1966.
8. GOMIDE, L.A.M.; PEREIRA, A.S. & GOMES, J.C. — Avaliação físico-química de salsichas Viena enlatadas. *Alimentação*, 76: 22-9, 1985.
9. HART, F.L. & FISHER, H.J. - *Modern Food Analysis*. New York, Springer, 1975. p. 194, 365-79.
10. HSU, L.A.; CIAMPI, C.M.S.; DELAZARI, I; LAZARINE, V.B.; GALVÃO, L.C.A. & FIGUEIREDO, I.B. — Avaliação da qualidade de salsichas. *Bol. Inst. Tecnol. Aliment.*; 53:93-107, 1977.
11. INSTITUTO ADOLFO LUTZ (São Paulo). — *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos*. 3ª ed. São Paulo, IMESP, 1985. v.1, p. 46-54.
12. LAJOLO, F.M. & AREAS, J.A.G. — Determinação enzimática específica de amido, glicose, frutose e sacarose em bananas pré-climáticas e climáticas. *An. Farm. Quim. S. Paulo*, 20: 307-18, 1980.
13. LAUCK, R.M. — The functionality of binders in meat emulsions. *J. Food Sci.*, 40: 736-40, 1975.
14. LEE, C.K. — The determinations of carbohydrates in foods. In: KING, R.D. — *Developments in foods analysis techniques*. London, Applied Sci., 1978. v. 1, p. 261-91.
15. MORAES, O.M.G. & CHAVES, M.B. — Método espectrofotométrico para determinação de amido em produtos cárneos. In: ENCONTRO NACIONAL DE ANALISTAS DE ALIMENTOS, 4º, Belo Horizonte, 1988.
16. MORRIS, D.L. — Quantitative determination of carbohydrates with Dreywood's anthrone reagent. *Science*. 107:254-5, 1948.
17. NELSON, N. — A photometric adaptation of Somogyi method for the determination of glucose. *J. biol. Chem.*, 153: 375-80, 1944.
18. RODRIGUES, F.A. — *Tecnologia dos produtos cárneos*. Campinas, Instituto de Tecnologia de Alimentos — ITAL, Centro de Tecnologia de Carne, 1978. p. 99-103.
19. SOMOGYI, M. — Determination of blood sugar. *J. biol. Chem.*, 160: 69, 1945.
20. STEVENS, F.J. & CHAPMAN, R.A. — The determination of starch in meat products with the anthrone reagent. *Ass. off. Agric. Chem.*, - 38: 202-10, 1955.
21. TAKINO, M.; KOMATSU, I. & GALLI, F. — A porcentagem de amido na salsicha e mortadela fabricada em São Paulo. *Cienc. Cult.*, São Paulo, 29 (supl.): 124-5, 1977. [Resumo 54-A.5.1.]
22. WINTON, A.L. & WINTON, K.B. — *The structure and composition of foods*. New York, Wiley, 1939. v. 4, p. 319-40.

Recebido para publicação em 27 de novembro de 1989.