

MÉTRICAS ANALÍTICAS VERDES NO DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS PARA A DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNA TOTAL

MARIANNE MOREIRA SANTOS DE MELO¹; PRICILA NASS²; MARCIA FOSTER MESKO³

¹Universidade Federal de Pelotas – marianne_msmelo@hotmail.com;

²Universidade Federal de Pelotas – pricila.nass@gmail.com;

³Universidade Federal de Pelotas – marciamesko@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

O método de Kjeldahl, embora tradicional e amplamente utilizado para determinação de proteínas em alimentos, apresenta limitações frente aos princípios da química analítica verde, devido ao elevado consumo de reagentes corrosivos, longos tempos de análise e geração de resíduos tóxicos (AOAC, 2007). Como alternativa, a digestão assistida por micro-ondas em sistemas fechados surge como abordagem mais sustentável e eficiente, pois pode proporcionar maior controle dos parâmetros analíticos, aumento da eficiência de decomposição, menor risco de contaminação, redução do consumo de reagentes, uso de ácidos diluídos e, conseqüentemente, ampla compatibilidade com diferentes técnicas instrumentais (KRUG; ROCHA, 2016).

Os princípios da Química Verde representam um conjunto de diretrizes que orientam o desenvolvimento de processos químicos mais seguros, sustentáveis e de menor impacto ambiental. Entre eles destacam-se a redução do uso de reagentes tóxicos, a preferência por fontes renováveis, a minimização do consumo de energia e a adoção de métodos automatizados e miniaturizados, que reduzem resíduos e exposição ocupacional. Quando aplicados à Química Analítica, esses princípios fundamentam o conceito de Química Analítica Verde (Green Analytical Chemistry - GAC) (ANASTAS; EGHBALI, 2010).

A GAC busca desenvolver métodos que conciliem eficiência e responsabilidade ambiental, reduzindo impactos à saúde e ao meio ambiente. Como não há um produto final quantificável, tornam-se necessários indicadores específicos para avaliar a sustentabilidade dos procedimentos. Dessa forma, a comparação de métricas verdes no preparo de amostras não apenas orienta a escolha de métodos mais seguros e ecoeficientes, como também fortalece o desenvolvimento de práticas analíticas alinhadas aos princípios da química verde e às demandas atuais de responsabilidade socioambiental (PEREIRA et al., 2020).

Visando identificar uma abordagem mais sustentável e alinhada à química verde, este trabalho teve como objetivo comparar as métricas analíticas verdes entre o método clássico de Kjeldahl e o método proposto de digestão ácida assistida por micro-ondas combinado com a cromatografia de íons, para a determinação de proteína total aplicado a alimentos à base de *whey protein*.

2. METODOLOGIA

Foram avaliadas 9 amostras de suplementos em pó de marcas nacionais e sabores diferentes. As amostras foram secas em estufa convencional a 85° C por 4 horas e armazenadas em tubos de polipropileno até o momento da análise. Foi analisado também um Material de Referência Certificado SRM-8414 NIST para validação do método.

Para execução do método Kjeldahl, foi utilizada a metodologia descrita por MELO et al., 2023. Para o desenvolvimento do método de preparo de amostra, foi utilizado um forno de micro-ondas equipado com oito recipientes de quartzo de alta pressão. O nitrogênio, em sua espécie catiônica (NH_4^+), foi determinado utilizando um cromatógrafo iônico equipado com uma bomba e um detector de condutividade.

Para a comparação das métricas analíticas entre os métodos utilizados nesse trabalho, foi utilizado o software *Analytical Greenness Calculator*, considerando cada uma das 12 variáveis de entrada em que o valor, quanto mais próximo de 1, mais verde é o método. Na etapa de avaliação dos critérios de entrada, foram atribuídos pesos diferentes de acordo com sua relevância frente às aplicações analíticas previstas no desenvolvimento do método. Princípios como, *i*) integração de etapas no processo; *ii*) volume de resíduos gerados; *iii*) possibilidade de abordagem multianalítica; *iv*) uso de reagentes tóxicos, e *v*) segurança do operador, receberam maior ponderação em relação aos demais critérios, devido ao seu impacto na eficiência, sustentabilidade e viabilidade do método.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores de proteína bruta (PB) nas amostras de alimentos à base de *whey protein* variaram de 25,15 a 78,88% no método desenvolvido, como pode ser observado na Tabela 1. Os valores obtidos pelo método proposto foram comparados aos valores obtidos pelo método clássico, e foi observado valores entre 100 – 112%, mostrando valores de concordância satisfatórios. A precisão do método desenvolvido foi avaliada pela análise do material de referência certificado – Bovine Muscle (SRM-8414 NIST) – e o resultado demonstrou uma concordância de 97% entre o valor obtido e o valor certificado.

Tabela 1. Resultados obtidos para proteína bruta (PB) em suplementos à base de *whey* (média \pm desvio padrão, n = 3).

Amostras	Proteína total (%)		Concordância (%)
	Método clássico	Método desenvolvido	
S1	66,79 \pm 3,81	71,82 \pm 0,76	107
S2	60,00 \pm 2,00	60,79 \pm 0,60	101
S3	58,68 \pm 0,14	66,14 \pm 2,95	112
S4	62,46 \pm 0,41	64,25 \pm 1,79	102
S5	21,28 \pm 0,19	25,15 \pm 2,12	107
S6	60,69 \pm 0,19	63,47 \pm 1,23	104
S7	76,02 \pm 0,29	75,97 \pm 0,27	100
S8	73,17 \pm 0,36	78,88 \pm 0,03	107
S9	70,64 \pm 0,47	77,20 \pm 2,26	109

Os resultados obtidos demonstraram que a digestão ácida assistida por micro-ondas, seguida da determinação por cromatografia de íons, apresentou uma pontuação de 0,75 (Figura 1a), consideravelmente superior ao método convencional, que obteve apenas 0,17 (Figura 1b). Como os valores mais próximos de 1 indicam maior alinhamento com os princípios da Química Verde, fica evidente

que o método desenvolvido se destaca como um método ambientalmente amigável. Essa diferença também é refletida no pictograma AGREE, no qual doze critérios de avaliação foram aplicados para compor uma representação visual apresentada na Figura 1, com gradiente de cores que varia do vermelho ao verde. O método proposto alcançou uma pontuação que evidencia sua forte conformidade com os princípios de redução de resíduos, eficiência energética e segurança analítica.

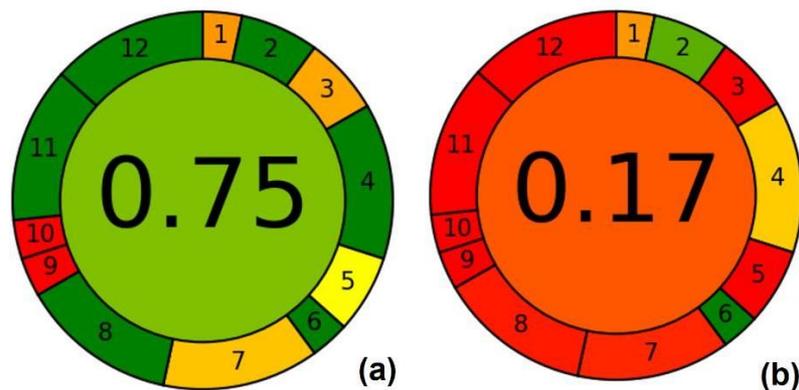


Figura 1. Métricas analíticas verdes (a):Método proposto (b) Método convencional

É importante ressaltar que a análise não se restringe apenas à pontuação numérica, uma vez que a ponderação dos critérios avaliados teve papel decisivo na interpretação dos resultados. Aspectos como a integração de etapas no processo, o volume de resíduos gerados, a possibilidade de uma abordagem multianalítica, o uso de reagentes tóxicos e a segurança do operador receberam maior peso por estarem diretamente relacionados à viabilidade prática e ao impacto ambiental do método.

Dessa forma, a superioridade do procedimento desenvolvido não está apenas na obtenção de resultados analíticos confiáveis, mas também em sua capacidade de equilibrar desempenho técnico e sustentabilidade ambiental. Em comparação ao método convencional, que apresentou baixo índice de ecologização, a digestão assistida por micro-ondas e posterior determinação por cromatografia iônica mostra-se uma alternativa mais eficiente, segura e sustentável, atendendo não apenas às demandas analíticas, mas também aos princípios da Química Verde.

4. CONCLUSÕES

Os resultados demonstraram que o método proposto proporciona uma precisão elevada na determinação de proteína bruta (PB), como também apresenta melhor desempenho ambiental, conforme evidenciado pela pontuação superior no *Analytical Greenness Calculator* quando comparado ao método clássico. Dessa forma, o método se mostra vantajoso tanto do ponto de vista analítico, garantindo precisão e exatidão adequados, quanto do ponto de vista de sustentabilidade, consolidando-se como uma alternativa mais eficiente e “verde” em relação ao método convencional.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANASTAS, Paul; EGHBALI, Nilay. Green chemistry: principles and practice. *Chemical Society Reviews*, v. 39, n. 1, p. 301-312, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1039/B918763B>

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

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

KRUG, F. J.; ROCHA, F. R. P. **Métodos de preparo de amostras para análise elementar**. São Paulo: EditSBQ – Sociedade Brasileira de Química, 2016.

MELO, M. M. S.; OUTEIRO, J. M. ; BALBINOT, F. P. ; RONDAN, F. S. ; HEBERLE, T. ; MESKO, M. F. . Determinação de proteína em alimentos não proteicos e à base de whey protein utilizando o método kjeldahl. In: **9º SEMANA INTEGRADA DE INOVAÇÃO, ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO**, Pelotas, 2023.

PEREIRA, F.P., WOJNOWSKI W., TOBISZEWSKI, M. *Analytical Chemistry*. V. 92 (14), p. 10076-10082. 2020. DOI: 10.1021/acs.analchem.0c01887.