

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

ANYARA LUBIANA BARATA

**PROTOCOLO LABORATORIAL PARA ANÁLISE QUANTITATIVA DE
MATÉRIA SECA E EXTRATO ETÉREO**

ALEGRE – ES
2016

ANYARA LUBIANA BARATA

**PROTOCOLO LABORATORIAL PARA ANÁLISE QUANTITATIVA DE
MATÉRIA SECA E EXTRATO ETÉREO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Zootecnia.

Orientador: Prof. DSc, José Geraldo de Vargas Junior

ALEGRE – ES
2016

ANYARA LUBIANA BARATA

PROTOCOLO LABORATORIAL PARA ANÁLISE QUANTITATIVA DE MATÉRIA SECA E EXTRATO ETÉREO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Zootecnia.

Aprovado em _____ de _____ de 2016.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. DSc. José Geraldo de Vargas Júnior
Universidade Federal do Espírito Santo
(Orientador)

Prof. DSc. Walter Amaral Barboza
Universidade Federal do Espírito Santo

Zootecnista MSc. Júlio Francisco Valiati Marin

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente e acima de tudo e todos a Deus pela vida, saúde, por cuidar de mim, guiar meus passos e iluminar meu caminho.

À minha mãe, pelo amor incondicional e exemplo de ser humano.

Às minhas irmãs, Eve e Ariane, por serem quem são.

Aos Barata e aos Grillo pelo amor, incentivo e apoio.

Ao professor José Geraldo de Vargas Junior, muitas vezes Zé, pelos conselhos, amizade e incentivo.

Ao professor Walter Amaral Barboza pelos conselhos e visão crítica do mundo.

Aos colegas do Aviário pelos finais de semana de ração, aventuras com codornas fujonas, d'angolas loucas e galinhas malucas.

Aos amigos que fiz aqui, por alegrarem meus dias e me ensinarem com suas experiências.

Aos colegas de repúblicas que colecionei durante os anos que morei aqui, obrigada por me ensinarem a ver e compreender as diferenças.

À República Whiskas, pelo Lar Temporário. Desculpa pelas louças que não lavei e lâmpadas que não apaguei.

Aos colegas da Zootecnia, pela parceria, alegria nas viagens, visitas técnicas e dias de campo.

À Universidade Federal do Espírito Santo, por proporcionar a realização de um sonho.

Aos Professores do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Espírito Santo pelo conhecimento compartilhado.

À FAPES pelo apoio financeiro em forma de bolsa de Iniciação Científica durante dois anos.

Enfim, agradeço a todos que me ajudaram e confiaram em mim.

O novo crescimento não pode existir sem
primeiro a destruição do velho

Guru Laghima

RESUMO

Objetivou-se com esse trabalho avaliar as metodologias de extração de gordura e determinação de matéria seca descritas por Silva e Queiroz (2002). Para isso foram alterados os tempos de análise, pesos de amostra e número de repetições. Foram utilizadas amostras de milho, farelo de soja e feno de tifton 85 coletadas na Área Experimental da Universidade federal do Espírito Santo. Para o ensaio de matéria seca os tratamentos foram: pesos de amostras de 2 e 4 gramas, tempos de secagem de 4 e 12 horas e combinados com 2 números de repetições (2 e 4). Para a determinação de extrato etéreo os tratamentos foram: amostras com pesos de 2, 4 e 6 gramas, extração durante de 4 e 12 horas e combinados com 2 números de repetições (2 e 4). As médias de umidade não demonstraram diferença estatística ($P>0,05$) indicando que tempos de secagem e pré-secagem menores foram suficientes para a determinação da matéria seca. Os teores de gordura sofreram alterações que podem evidenciar que amostras mais pesadas precisam de mais tempo que o prescrito na metodologia para a completa extração das gorduras. Dessa forma foi possível concluir que a determinação de umidade pode ser realizada com a utilização de amostras contendo 2 g e duas repetições e secagem de 4 horas. Para a determinação do extrato etéreo é indicada a utilização de amostras contendo 4 g, duas repetições e extração de 4 horas.

Palavras-chave: Bromatologia, nutrição animal, análise de alimento

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 REVISÃO DE LITERATURA	9
2.1 Matéria seca e umidade	9
2.2 Gordura bruta ou Extrato etéreo.....	13
3 MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1 Matéria seca.....	16
3.2 Extrato Etéreo	16
4 RESULTADOS.....	17
5 DISCUSSÃO	20
6 CONCLUSÃO	22
7 REFERÊNCIAS	23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Umidade em milho, farelo de soja e feno de tifton 85 com diferentes pesos de amostra e número de repetições.....	17
Tabela 2 – Umidade em milho, farelo de soja e feno de tifton 85 com diferentes pesos de amostra e períodos de secagem.....	18
Tabela 3 - Extrato Etéreo de milho, farelo de soja e feno de tifton 85 em relação ao peso da amostra e número de repetições.....	19
Tabela 4 – Extrato Etéreo de milho, farelo de soja e feno de tifton 85 com diferentes pesos da amostra e número de repetições.....	19

1 INTRODUÇÃO

A nutrição é um dos fatores mais importantes na produção animal. Em criações confinadas o custo com alimentação pode chegar a 80% do custo total da produção. Para atender as necessidades nutricionais do animal são formuladas rações balanceadas conforme a categoria animal. Para isso, é necessário o conhecimento dos ingredientes disponíveis para a formulação e sua composição bromatológica, que poderá variar em função da cultivar, da qualidade da matéria prima, da forma e do tempo de armazenamento, época de colheita, forma de processamento e da presença de pragas e fungos.

A Bromatologia é a ciência que estuda os alimentos em sua totalidade. A palavra deriva do grego *bromatos* que significa alimentos e *logos*, ciência. Na Nutrição Animal tem importante papel como ferramenta no balanceamento de rações, permitindo melhor utilização dos ingredientes e resposta na produção.

O método que usualmente é utilizado para realizar a análise proximal dos alimentos é o método criado por Weende, em 1864. As análises clássicas realizadas, são a determinação de matéria seca, de proteína bruta, de extrato etéreo, de fibra bruta, de extrato não-nitrogenado e de matéria mineral.

O tempo preconizado para a realização das análises possui ampla variação entre metodologias e na mesma metodologia, como na análise de extrato etéreo que relata variação entre quatro e dezesseis horas para execução. Em função dessa variação, surge a dúvida da alteração dos valores encontrados, após a análise das amostras, em diferentes tempos utilizados na análise. Esse ensaio foi realizado com o objetivo de avaliar as metodologias de extração de gordura e determinação de matéria seca descritas por Silva e Queiroz (2002) e confeccionar protocolo laboratorial adaptado utilizando diferentes tempos de análise, pesos de amostra e número de repetições.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 MATÉRIA SECA E UMIDADE

A determinação da umidade é o primeiro processo realizado na rotina para a determinação das características bromatológicas do alimento. A preservação do alimento pode estar condicionada ao teor de umidade do material, além disso, quando se compara o valor nutritivo de dois ou mais alimentos, é necessário levar em consideração os respectivos teores de matéria seca (SILVA e QUEIROZ, 2002).

O teor de água nos alimentos é um fator de extrema importância para o controle da qualidade das rações. Umidades superiores a 14% favorecem o crescimento de fungos que podem ser produtores de micotoxinas (BIAGI; CARNEIRO; BERTOL, 2002). A determinação da Matéria Seca (MS) é um método que parece simples, mas pode encontrar dificuldades relacionadas à precisão dos resultados. Dado que pode ocorrer separação incompleta da água, decomposição do produto com formação de água além do original, perda de substâncias voláteis que serão computadas como peso em água (CECCHI, 2003). A água dos alimentos pode se apresentar de duas formas: água livre e água ligada. A água livre é fracamente ligada aos demais componentes do alimento. É essa água que pode servir como meio de cultivo de microrganismos e para reações bioquímicas, afetando a qualidade e conservação do produto. A água ligada possui ligações mais fortes aos componentes do alimento (ISENGARD, 2001).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2008), utiliza-se a expressão determinação de água ou determinação de umidade quando se define, em condições especificadas, a água de hidratação ou a água de adsorção de uma substância. A expressão perda por dessecação refere-se geralmente à perda em massa, por secagem, em condições especificadas, de água e outros componentes residuais voláteis. Geralmente a umidade representa a água contida no alimento, que pode ser classificada em: umidade de superfície, que se refere à água livre ou presente na superfície externa do alimento, facilmente evaporada e umidade adsorvida, que se refere à água ligada, encontrada no interior do alimento, sem combinar-se quimicamente com o mesmo. A umidade corresponde à perda em peso sofrida pelo produto quando aquecido em condições nas quais a água é removida.

Na realidade, não é somente a água a ser removida, mas outras substâncias que se volatilizam nessas condições. O resíduo obtido no aquecimento direto é chamado de resíduo seco.

A Matéria Seca (MS) é obtida através da diferença entre o peso total da amostra e a umidade. A literatura possui diversos métodos para determinação do conteúdo de sólidos, porém não existe um método exato, prático e que seja aplicável a todo tipo de alimento (CECCHI, 2003).

A AOAC – Association of Official Analytical Chemists (1995) especifica 03 metodologias para obtenção de Matéria Seca (MS) em alimentos destinados à alimentação animal. A secagem a vácuo com temperatura de 95 - 100°C, utilizando 02 g de amostra até peso constante, sob pressão < 100 mmHg por 5 horas. Sugere que ao realizar o procedimento em alimentos com altas concentrações de melaço (açúcar), utilizar temperatura $\leq 70^{\circ}\text{C}$ e pressão \leq a 50 mmHg. Na destilação com tolueno, a quantidade de amostra depende do teor de umidade do alimento. Deve-se adicionar amostra de forma a resultar de 2 a 5 ml de água ao fim da destilação. Adicionar tolueno até cobrir a amostra e destilar lentamente. Regular a destilação para 2 gotas por segundo até que a maior parte da água passe para o receptor e depois aumentar para 4 gotas por segundo. Ao fim da destilação deve-se ler a quantidade de água como porcentagem de umidade da amostra. Ainda é descrita a secagem a 135°C de 2 g da amostra em estufa de circulação forçada por 2 horas.

O Instituto Adolfo Lutz descreve três metodologias gerais para determinação da umidade e MS dos alimentos. O método mais usual é a secagem direta de 02 g de amostra em estufa a 105°C por 3 horas. Porém, alimentos que se decompõem ou iniciam processos a esta temperatura devem ser secos em estufas a vácuo. A secagem por esse tipo de estufa é realizada sob pressão \leq 100 mmHg durante 06 horas amostras contendo 2 a 10 g do alimento. Para farinhas de cereais, amiláceos e extrato de soja ainda é possível a determinação de umidade em estufa a 130°C, durante 01 hora. Ainda segundo os métodos descritos pelo instituto, esses procedimentos representam a umidade na temperatura da secagem, a umidade livre. Os métodos de destilação e de Karl Fisher fornecem valores mais precisos sobre o teor de água. Para proceder ao método de Karl Fisher é necessária a utilização de aparelho especial que exclua a influência da umidade do ambiente. A

amostra utilizada na titulação é definida de forma que contenha de 10 a 80 mg de água. A determinação do teor de umidade, após todas as titulações necessárias é feita através de cálculo que considera o fator do reagente de Karl Fisher titulado, o volume do reagente gasto e o peso inicial da amostra.

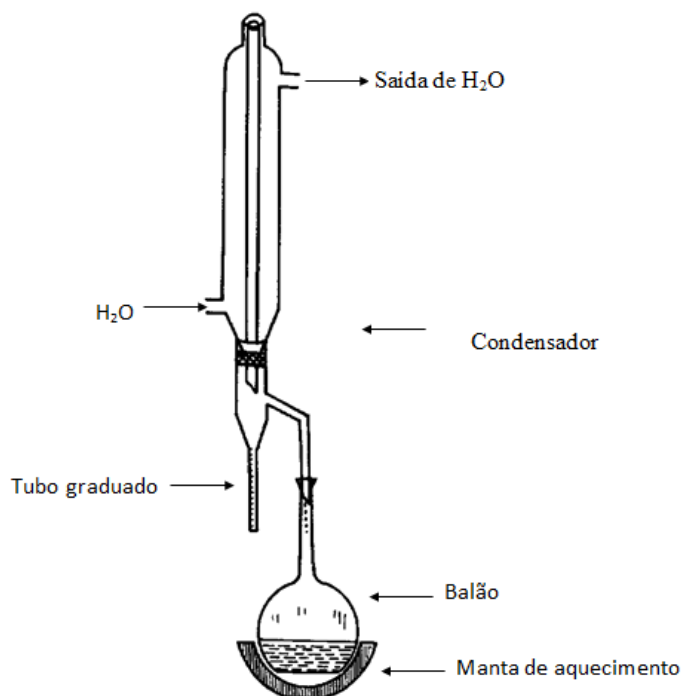
Silva e Queiroz (2002) descrevem métodos de pré-secagem e secagem definitiva. A pré-secagem é necessária quando o alimento a ser analisado possui alto teor de umidade, ou matéria seca menor que 85%, como silagens e forragens. A temperatura utilizada é entre 55° e 60° C, para prevenir a volatilização de outras substâncias, como o nitrogênio. A pré-secagem é um método que tenta imitar a secagem feita ao ar. O material que passou por esse processo é chamado de pré-seco, ou parcialmente seco, ou seja, amostra seca ao ar (ASA). Pode ser realizada em estufa com circulação forçada de ar a 55°C, por 16 ou 24 horas. O peso das amostras varia de 70 g a 250 g. Para realização do método no forno de micro-ondas se emprega a mesma classificação para determinação do peso de cada amostra. As amostras são submetidas à radiação por aproximadamente 3 minutos, misturadas e reaquecidas de acordo com o teor de umidade. Duas e três vezes para alimentos que contenham 50% e 75% de umidade respectivamente. A amostra pré-seca ou parcialmente seca possui aproximadamente 90% de matéria seca, se em ambiente com umidade relativa menor que 60%. Dessa forma, o material pode ser moído em moinhos a fim de produzir uma amostra mais homogênea para as análises.

A secagem definitiva é executada em amostras de alimentos previamente submetidos à pré-secagem ou que possuam baixo teor de substâncias voláteis, caso de rações fareladas, fenos e grãos. Deve ser feita de preferência em estufa com circulação forçada de ar. As amostras contendo 2 g do alimento de estudo podem ser secas à 135°C por 2 horas, 100°C durante 24 horas ou ainda à 105°C por 16 horas na estufa de circulação forçada. O método utilizando aparelho de micro-ondas também é descrito e o procedimento é o mesmo que para a pré-secagem, com alteração ao final, onde se pesa as amostras até peso constante. No Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa(DZO-UFV), utiliza-se um método simplificado. Em que pesa-se de 2 a 5 g da amostra pré-seca, 2 a 3 g para forrageiras e 3 a 5 g para concentrados. Utiliza-se a estufa à 105°C por, pelo menos, 4 horas. Existe também um método direto, que

fornece boa aproximação da matéria seca sem a necessidade de determinar a pré-secagem, sendo de grande utilidade quando não se precisa de alta precisão do conteúdo de umidade e matéria seca. Neste método submete-se as amostras à secagem em estufa de circulação forçada de ar, com temperatura entre 70°C e 80°C durante, aproximadamente, 48 horas.

Silva e Queiroz (2002) ainda descrevem a determinação de matéria seca pelo método do tolueno e o recomendam para determinação de umidade em forragens fermentadas (silagens) que possuam altas concentrações de substâncias voláteis. O princípio do método é de que a água desprendida da amostra durante a destilação seja capturada em camada de tolueno, evitando a perda das substâncias voláteis. Dessa forma a umidade é medida de forma direta, ou seja, o teor de umidade depende da quantidade de água recebida e lida no tubo receptor. O procedimento é feito em aparelho especial de leitura de umidade (Figura 1). Utilizando de 5 a 10 g de amostra, de forma a resultar em 4 a 8 mL de água, adiciona-se uma quantidade de tolueno suficiente para cobrir as amostras.

Figura 1. Instrumento utilizado na determinação de umidade com tolueno.



Fonte: (Souza e Queiroz, 2002).

O aquecimento é feito favorecendo destilação lenta, com 2 gotas por segundo, até que a maior parte da água tenha sido extraída do material, nesse momento aumenta-se

a velocidade para 4 gotas por segundo até o fim da extração de água. O tempo da extração dura em média uma hora e a determinação da umidade é feita a partir da leitura da quantidade de água extraída e o peso inicial da amostra. Para maior precisão, Silva e Queiroz aconselham a análise da água para substâncias que possam ser co-distiladas juntamente com a água.

2.2 GORDURA BRUTA OU EXTRATO ETÉREO

Os lipídios constituem grande classe de compostos que incluem gorduras, óleos, pigmentos e ceras, além de grande variedade de outros compostos como colesterol, fosfolipídios e lipoproteínas. São substâncias insolúveis em água, porém solúveis em éter, clorofórmio, benzeno e outros solventes orgânicos chamados de extratores (SINDIRAÇÕES, 2013). Estas substâncias solúveis contidas na amostra seca são dissolvidas através da extração com éter, o qual é evaporado desta solução gordurosa. (SILVA e QUEIROZ, 2002). De acordo com Pinheiro et al. (2005) as gorduras servem principalmente como fornecedores de energia, sendo oxidadas nas células durante a respiração celular. Alimentos ricos destas substâncias costumam ser chamados de alimentos energéticos.

Segundo Cecchi (2003), a extração de gorduras pode ser feita com solvente a quente, mistura de solventes a frio e extração de gordura ligada a outros compostos. A extração a quente pode ser pelos métodos de Soxhlet ou Goldfisch e a mistura de solventes pelo método de Blich-Dyer. Para produtos como leite e pães a gordura precisa ser desligada de outras substâncias para quantificação, por isso se procede hidrólise antes da extração. Essa hidrólise pode ser ácida, pelos processos de Gerber ou Babcock ou alcalina, método de Rose-Gottlieb e Mojonier.

O processo de Gerber é utilizado somente em produtos lácteos, pois a gordura está presente em forma de emulsão cercada por um filme de proteína. A amostra é tratada com ácido sulfúrico a fim de quebrar esse filme e se conseguir a extração de gordura. Após a digestão a amostra é centrifugada em um butirômetro, que já vem calibrado com uma escala volumétrica. A gordura é medida diretamente no butirômetro. O processo de Babcock é muito semelhante ao de Gerber, diferindo apenas nas quantidades de amostra e ácido sulfúrico adicionado para a digestão. O método de Gerber é 2 a 3 vezes mais rápido que o de Babcock. Para hidrólise

alcalina (Rose-Gottlieb e Mojonier) a separação gordura – proteína é feita com hidróxido de amônia e álcool e depois a gordura é extraída com éter de petróleo.

Silva e Queiroz (2002) descrevem dois métodos de extração de gordura. O método a quente é realizado em aparelho do tipo Goldfisch com temperatura mais elevada. A extração é feita com éter de petróleo e tem duração de 04 ou 16 horas. O método a frio é feito em extrator Soxhlet e o solvente utilizado é o éter sulfúrico, que possui ponto de ebulição por volta dos 35°C. Ambos os métodos de destilação são precedidos pela secagem dos cartuchos de amostra, a fim de diminuir o erro na determinação. Amostras pesando 2 g são dispostas no aparelho extrator juntamente com 4 mL do solvente escolhido.

A recomendação de período de rodagem é de quatro horas em temperatura máxima (5 a 6 gotas por segundo) ou 16 horas em temperatura baixa (2 a 3 gotas por segundo). O éter é recuperado no fim da extração. Após a destilação é necessária a evaporação do éter das amostras em capela. As amostras e os copos ou béqueres utilizados na destilação são secos em estufa a 105°C por, no máximo, 30 minutos. Aumento excessivo de temperatura facilita a oxidação das gorduras e pode fornecer resultados elevados. A determinação de gordura é realizada com a pesagem do béquer ou copo extrator antes e depois da destilação, de forma que, a diferença de peso corresponde ao peso da gordura extraída.

AOAC (1995) descreve o método chamado direto em que se pesa 2 g de amostra previamente seca em cartuchos de papel porosos que permitam a passagem rápida de éter. A extração é feita em aparelho apropriado e pode variar de 4 horas, com taxa de condensação de 5 a 6 gotas por segundo ou 16 horas, com 2 a 3 gotas por segundo. As amostras desengorduradas são secas a 100°C por 30 minutos, resfriadas e pesadas para obtenção do teor de gordura.

O método chamado Extrato etéreo em alimentos para animais de estimação deve ser usado apenas em produtos que tenham sido cozidos e ou expandidos, e em rações pet com teor de umidade intermediário. Não é apropriado para alimentos enlatados, frescos ou congelados, pois esses alimentos devem ser previamente secos a vácuo e a extração feita pelo método direto. Nesse processo 2 g de amostra são tratadas com ácido clorídrico e colocadas em banho maria a 70-80°C. Vários

solventes são adicionados durante o processo, a fim de hidrolisar a ligação gordura/proteína. Os solventes são filtrados a fim de reterem a gordura. Para o método utilizado para extrair gordura de produtos e subprodutos do leite, se utiliza amônia e não o ácido.

Blight e Dyer (1959) sugeriram método de extração de gordura a frio que utilizava uma mistura de três solventes: clorofórmio metanol e água. Os solventes são adicionados à amostra em proporção que favorece a formação de duas fases distintas. Em uma delas se concentram o clorofórmio e os lipídios e na outra o metano e a água. Essa forma de extração tem como vantagens em relação à extração a quente por extrair todas as classes de lipídios sem aquecimento, permitindo a avaliação de deterioração das gorduras. Outra vantagem é que não necessita de equipamentos sofisticados, podendo ser realizada em tubos de ensaio.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Bromatologia e Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia, localizado no Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCAIE – UFES) em Alegre-ES. Os alimentos utilizados para o experimento foram milho moído, farelo de soja e feno de Tifton 85. As amostras foram retiradas do estoque da área experimental da UFES, localizada em Rive, nesse mesmo município. Os dados foram analisados utilizando-se os procedimentos para análise de variância teste F e de Student-Newman-Keuls (SNK), por meio do Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas (SAEG), desenvolvido na Universidade Federal de Viçosa (UFV, 2007).

3.1. MATÉRIA SECA (MS)

No preparo do material para as análises se procedeu a pré-secagem do feno de tifton. O feno foi dividido em duas partes e cada uma delas submetida a pré-secagem por 16 e por 30 horas, em estufa de circulação forçada de ar, a 55°C. Dessa forma, para a análise MS foram utilizados 04 alimentos: milho moído, farelo de soja, feno pré-seco por 16 horas e feno pré-seco por 30 horas. Após a pré-secagem todo o feno foi moído e reservado. Para o ensaio da Matéria Seca (MS) utilizou-se Método Simplificado de uso no Laboratório de Nutrição Animal do DZO-UFV descrito por Silva e Queiroz (2002). A secagem definitiva foi realizada em estufa a 105°C, com 02 diferentes períodos de secagem, sendo, 4 e 12 horas. Além do tempo de secagem variaram-se os pesos das amostras (2 g e 4 g) e o número de repetições (2 e 4).

3.2 EXTRATO ETÉREO (EE)

O ensaio de Extrato Etéreo (EE) foi baseado no Método a quente, também descrito por Silva e Queiroz (2002). As amostras foram submetidas à extração em aparelho extrator do tipo Soxhlet com dois diferentes tempos de rodagem, 4 e 8 horas. Amostras com 2, 4 e 6 gramas, combinado com dois números de repetições (2 e 4).

4 RESULTADOS

Tabela 1 - Dados médios obtidos na determinação de umidade de diferentes alimentos com amostras de diferentes tamanhos e número de repetições

	Milho			Soja			Feno 16h			Feno 30h		
	Repetições			repetições			repetições			Repetições		
peso (g)	02	04	\bar{x}	02	04	\bar{x}	02	04	\bar{x}	02	04	\bar{x}
2	88,54	88,62	88,58 ^{ns}	89,56	89,66	89,61 ^{ns}	86,86	86,85	86,85 ^{ns}	86,37	86,36	86,36 ^{ns}
4	88,72	88,66	88,69 ^{ns}	89,67	89,59	89,63 ^{ns}	86,86	86,95	86,90 ^{ns}	86,28	86,32	86,30 ^{ns}
\bar{x}	88,63 ^{ns}	88,64 ^{ns}	-----	89,62 ^{ns}	89,63 ^{ns}	-----	86,86 ^{ns}	86,90 ^{ns}	-----	86,32 ^{ns}	86,34 ^{ns}	-----
CV (%)	0,25			0,148			0,093			0,082		

CV(%) – coeficiente de variação; ns – não significativo pelos testes F e SNK no nível de 5% de significância.

Tabela 2 - Dados médios obtidos na determinação de umidade de diferentes alimentos com amostras de diferentes tamanhos e submetidas a períodos diferentes de secagem.

	Milho			Soja			Feno 16h			Feno 30h		
	horas			horas			horas			Horas		
Peso (g)	04	12	\bar{x}	04	12	\bar{x}	04	12	\bar{x}	04	12	\bar{x}
2	88,70	88,47	88,58 ^{ns}	89,42	89,81	89,61 ^{ns}	86,87	86,83	86,85 ^{ns}	86,40	86,33	86,36 ^{ns}
4	88,75	88,64	88,69 ^{ns}	89,50	89,76	89,63 ^{ns}	86,93	86,87	86,90 ^{ns}	86,30	86,30	86,30 ^{ns}
\bar{x}	88,72 ^{ns}	88,55 ^{ns}	-----	89,63 ^{ns}	89,46 ^{ns}	-----	86,90 ^{ns}	86,85 ^{ns}	-----	86,35 ^{ns}	86,31 ^{ns}	-----
CV (%)	0,25			0,148			0,093			0,082		

CV(%) – coeficiente de variação; ns – não significativo pelos testes F e SNK no nível de 5% de significância.

Tabela 3 - Extrato etéreo de milho, farelo de soja e feno de tifton 85 em relação ao peso da amostra e tempo de extração.

peso (g)	Milho			Soja			Feno		
	Horas			horas			horas		
	4	8	\bar{x}	4	8	\bar{x}	4	8	\bar{x}
2	10,25b	10,52a	10,38b	9,13	9,85	9,49a	6,5 a	8,75 a	7,63 a
4	11,52a	10,81a	11,17a	10,38	6,11	8,24c	5,12 b	8,13 a	6,63 c
6	11,35a	9,35b	10,35b	9,56	7,72	8,64b	7,21 a	6,65 b	6,93 b
\bar{x}	11,04	10,23	-----	9,69 ^{ns}	7,89 ^{ns}	-----	6,28	7,85	-----
CV (%)	5,881			3,597			9,023		

ns – não significativo; CV(%) – coeficiente de variação; Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste SNK no nível de 5% de significância.

Tabela 4 - Extrato etéreo de milho, farelo de soja e feno de tifton 85 em relação ao peso da amostra e número de repetições

peso	Milho			Soja			Feno		
	Repetições			Repetições			Repetições		
	2	4	\bar{x}	2	4	\bar{x}	2	4	\bar{x}
2 g	10,20	10,57	10,38 ^{ns}	9,53	9,44	9,49 ^{ns}	7,59	7,67	7,63 ^{ns}
4 g	11,28	11,06	11,17 ^{ns}	8,58	7,91	8,24 ^{ns}	6,69	6,56	6,63 ^{ns}
6 g	10,32	10,38	10,35 ^{ns}	8,69	8,60	8,64 ^{ns}	7,09	6,76	6,93 ^{ns}
\bar{x}	10,6 ^{ns}	10,67 ^{ns}	-----	8,93 ^{ns}	8,65 ^{ns}	-----	7,12 ^{ns}	7,0 ^{ns}	-----
CV	5,881			3,597			9,023		

CV(%) – coeficiente de variação; ns – não significativo pelos testes F e SNK no nível de 5% de significância.

5 DISCUSSÃO

Não foram observados efeitos significativos ($P>0,05$) dos tratamentos na quantificação de umidade das amostras (Tabelas 1 e 2). Em trabalho com diferentes métodos para determinação de água em sementes, Da Luz *et al.* (1993) observaram ligeiros aumentos na umidade de grãos submetidos a secagem de 72 horas em comparação com os submetidos a secagem de 24 horas em estufa a 103°C. Esses mesmos autores, ainda que não tenha ocorrido significância, concluíram que esse resultado tenha sido em decorrência da maior permanência das amostras em estufa, permitindo que a água livre fosse retirada completamente do produto ou que tenha havido decomposição de proteínas, lipídios, carboidratos e perdas voláteis.

Em contrapartida, Campos e Tillmann (1996), analisando espécies de grandes culturas, como milho, arroz, trigo, cebola e soja, observaram variação de resultados entre diferentes métodos de secagem em estufa a 105°C e 130°C durante 17 e 24 horas. Os graus de umidade determinados por métodos diferentes podem apresentar divergências que podem estar relacionadas ao tempo de exposição ao calor (NERY; CARVALHO; OLIVEIRA, 2004). Essa discrepância entre a literatura e esse estudo pode ter ocorrido devido à diferença no tempo de secagem, que nesses estudos foram superiores aos testados.

Sendo as análises bromatológicas executadas em laboratório e demandarem gasto de recursos como água, eletricidade e solventes, torna-se interessante salientar o fato de não haver diferença estatística nos teores de umidade de nenhum dos alimentos e tratamentos (Tabelas 1 e 2). Além disso, não havendo diferença ($P>0,05$) na umidade dos dois tratamentos de pré-secagem e secagem definitiva dos fenos pode-se afirmar que a pré-secagem de 16 horas e a secagem definitiva de 02 horas foram suficientes para a secagem das amostras de feno.

O extrato etéreo apresentou diferença significativa ($P<0,05$) na interação entre o peso das amostras e o tempo de extração nos três alimentos teste (Tabela 3). No milho observou-se que com o aumento do peso da amostra houve redução na extração de gordura mesmo no tratamento com maior tempo de extração. Dessa forma, entende-se que amostras mais pesadas demandam mais tempo que o descrito na metodologia para a completa extração das gorduras. Da mesma forma,

amostras pequenas submetidas a períodos longos de extração podem estar sujeitas a deterioração de material e perdas de composição. Para a interação entre o número de repetições e o peso das amostras na determinação de EE não foi observada diferença ($P > 0,05$) em nenhum dos alimentos teste (tabela 4).

A determinação de gordura é uma análise que demanda tempo elevado, além disso, existem limitações do equipamento quanto ao número de amostras analisadas por vez e quanto ao uso comum dos equipamentos do laboratório. Durante o período de análise foi observado carunchamento nas amostras de milho e soja, mesmo que mantidos em potes fechados. Lopes et al. (1988) em estudo sobre a perda de peso e mudanças na composição química do milho devido ao carunchamento perceberam perda de peso conforme o grau de infestação. Souza et al. (2000) observaram aumento linear da MS e aumento quadrático do EE à medida em que houve aumento no nível de carunchamento. Em contrapartida, Antunes et al. (2011) estudando as características físico-químicas de milho infestados por caruncho durante o armazenamento, observaram que a gordura foi o constituinte que químico que mais diminuiu, com redução superior a 40%. Sendo assim, os resultados podem ter sido alterados pelo armazenamento inadequado das amostras. Uma forma de evitar a perda de características e diminuição do nível de infestação por pragas seria manter as amostras sob refrigeração, impedindo o desenvolvimento desses organismo.

6 CONCLUSÃO

Foi possível concluir que a determinação de umidade pode ser realizada com a utilização de amostras contendo 2 g e duas repetições e secagem de 4 horas. Para a determinação do extrato etéreo é indicada a utilização de amostras contendo 4 g, duas repetições e extração de 4 horas.

7 REFERENCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, Ministério da Saúde. Consulta Pública nº. 50, de 4 de setembro de 2008. Abre o prazo de 60 dias para que sejam apresentadas sugestões quanto às propostas de revisão e atualização dos Métodos Gerais da Farmacopéia Brasileira, e ao anexo: Métodos Gerais da Farmacopéia Brasileira. **Diário Oficial da União 2008**; 05 set.

ANTUNES, L.E.G.; et al. Características físico-químicas de grãos de milho atacados por *Sitophilus zeamais* durante o armazenamento. **Rev. bras. eng. agríc. ambient.** 2011, vol.15, n.6, pp.615-620.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of analysis.** 16 ed. Washington D.C., 1995. 1141 p.

BIAGI, J. D.; CARNEIRO, M. C.; BERTOL, R. Armazenamento de cereais. In: Simpósio Sobre Ingredientes Na Alimentação Animal, 2., 2002, Uberlândia. **Anais...** Campinas: CBNA, 2002. p. 117-133

BLIGH, E. G.; DYER, W. Jn. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian journal of biochemistry and physiology**, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos.** São Paulo; Editora Unicamp. 2007. 207p.

CORREIA, L.F.M.; FARAONI, A.S.; PINHEIRO-SANT'ANA, H.M. Efeitos do processamento industrial de alimentos sobre a estabilidade de vitaminas. **Revista Alim.Nutri.**, v.19, n.1, p. 83-95, jan./mar. 2008.

DA LUZ, C.; BAUDET, L.; TROGER, F.. Comparação de métodos diretos para determinação do teor de Água de sementes. **Revista Brasileira de Sementes, Brasilia**, v. 15, n. 2, p. 157-163, 1993.

ISENGARD, H.D. Water content, one of the most important properties of food. **Food Control, Oxford**, v. 12, n. 7, p. 395-400, 2001.

LOPES, D. C.; FONTES, R. A.; DONZELE, J. L. Perda de peso e mudanças na composição química do milho (*Zea mays*, L.) devido ao carunchamento. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.17, p.367-371, 1988.

NERY, M. C., CARVALHO, M. L. M. D., & OLIVEIRA, L. M. D.. Determinação do grau de umidade de sementes de ipê-do-cerrado *Tabebuia ochracea* ((Cham.) Standl.) pelos métodos de estufa e forno de microondas. **Ciênc. agrotec**, 2004.

PINHEIRO, D. M.; PORTO, K. R. A.; MENEZES, AMS. **A Química dos Alimentos: Carboidratos, lipídeos, proteínas, vitaminas e minerais**. Maceió: Edufal, 2005.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos). 3.ed. **Viçosa: Universidade Federal de Viçosa**, 2002. 235 p

SINDIRAÇÕES, **Compêndio Brasileiro de Alimentação animal**. p. 64-75, 2013

SOUZA, A. V. C. ; SANTOS, J. P. ; LOPES, D. C. . Composição química do milho em diferentes níveis de carunchamento. In: **37 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, 2000, Viçosa. 37 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2000. p. 262-262.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2008) Métodos físico-químicos para análise de alimentos. Coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea. São Paulo: **Instituto Adolfo Lutz**, versão eletrônica p.1020.