

**DETERMINAÇÃO DE AÇÚCARES REDUTORES E
TOTAIS EM ALIMENTOS. COMPARAÇÃO ENTRE
MÉTODO COLORIMÉTRICO E TITULOMÉTRICO**

**ANALYSIS OF TOTAL AND REDUCING SUGAR IN
FOODS. A COMPARATIVE STUDY BETWEEN
COLORIMETRIC AND TITRATION TECHNIQUES**

IVO MOTTIN DEMIATE¹

GILVAN WOSIACKI¹

CRISTINA CZELUSNIAK²

ALESSANDRO NOGUEIRA³

1 Professor do Departamento de Zootecnia
e Tecnologia de Alimentos da UEPG

2 Acadêmica de Engenharia de Alimentos
da UEPG, bolsista de Iniciação Científica
(IC/CNPq)

3 Engenheiro Agrônomo, bolsista de Apoio
Técnico (AT/CNPq)

RESUMO

A glucose, frutose e sacarose, açúcares solúveis que fazem parte de um grande número de alimentos, apresentam características estruturais que possibilitam a sua determinação qualitativa e quantitativa. Os monossacarídeos glucose e frutose, por apresentarem uma função aldeídica e uma cetônica livre, respectivamente, estão

PUBLICATIO UEPG - Exact and Soil Sciences, Agrarian S. and Engineering, 8 (1): 65 - 78, 2002.

capacitados a reduzir cations como cobre e prata transformando-se simultaneamente em produtos mais oxidados. Como a sacarose, porém, contém em sua estrutura dois resíduos de monossacarídeos com comprometimento de seus grupos anoméricos, esse dissacarídeo não tem capacidade de promover tais reduções. Há necessidade de um tratamento hidrolítico prévio, que pode ser feito em meio ácido forte ou com a interveniência de enzimas. Neste trabalho objetivou-se comparar duas técnicas analíticas na determinação de açúcares redutores e totais, usando-se como padrões soluções de glucose 1%, frutose 1% e sacarose 1% e o método do fenol sulfúrico como referencial; foram utilizadas duas técnicas de hidrólise de sacarose, uma em meio ácido e outra com invertase. Como amostras-testes foram utilizados sucos de maçãs processados em nível de laboratório e refrigerantes adquiridos no comércio local. Os resultados foram analisados estatisticamente e observou-se que, tanto nas soluções de concentração conhecida quanto nas amostras de sucos e refrigerantes, os métodos avaliados não apresentaram diferença significativa ao nível de 1% de significância.

Palavras-chaves: açúcares; análise; açúcares redutores; açúcares totais

1. Introdução

A propriedade de óxido-redução de cations como cobre e prata afeta a cor das soluções que os contêm, tornando-os adequados para emprego como componentes em reagentes analíticos. O Cu^{++} , de característica cor azul anil quando em solução alcalina, ao ser reduzido estequiometricamente a Cu^+ proporciona ao meio de reação um precipitado vermelho-tijolo; este é o fundamento químico do reagente conhecido como licor de Fehling. No reagente de Tollens, o cation selecionado é a prata, que passa de Ag^+ a Ag^0 , modificando uma solução incolor em um precipitado negro, capaz de espelhar a face interna de um recipiente de vidro, base científica da fabricação de espelhos.

A adequação desse fundamento químico à dosagem de carboidratos é tema de interesse acadêmico (BOBBIO e BOBBIO, 1989, 1992 e 1995, LASZLO et al., 1986, MONTES, 1969) e os procedimentos analíticos dos métodos de Somogyi, de 1945 e modificado por Nelson, em 1950, e de Lane-Eynon, também de 1950, com leituras colorimétricas e titulométricas, respectivamente, são reconhecidos e aceitos como oficiais

(IAL, 1976). Cada qual tem seus vieses, as sensibilidades são diferentes, as leituras colorimétricas são muito precisas e as titulométricas, relativamente grosseiras – neste caso, o sucesso da análise repousa na prática do analista, por exemplo.

Os carboidratos capazes de reduzir sais de cobre e prata em soluções alcalinas, conhecidos como açúcares redutores, apresentam grupamentos aldeídicos ou cetônicos livres. Assim, todos os monossacarídeos são redutores e o mecanismo de óxido-redução está relacionado com a formação de um enediol, função fortemente redutora em meio alcalino, que interconverte aldoses e cetoses. A glucose, em meio alcalino, é rapidamente transformada no enediol, levando à formação de frutose e de manose, e este composto, conhecido como redutona, ao ser oxidado à função aldônica causa a redução dos íons cúpricos. O mecanismo é semelhante ao dos demais monossacarídeos, em especial ao da frutose e ao da manose, os mais importantes nos alimentos naturais e/ou processados.

A ligação glicosídica, ao ser formada, imobiliza por definição uma função carbonila, que passa a se ligar com o álcool primário de outro composto conhecido como fração aglicona; quando essa aglicona é um monossacarídeo caracteriza-se a estrutura de um dissacarídeo. Os dissacarídeos apresentam um poder de redução de sais de cobre de 50% além do que a sua estrutura, formada por condensação, apresenta um peso molecular de 342 daltons. Ou seja, o cálculo deve levar em conta a perda de exatos 5% na estrutura condensada. Assim, a dosagem de maltose deve levar em conta a existência de um grupamento anomérico livre e um peso molecular menor do que as duas moléculas de glucose que a constituem, ou seja, 2 vezes 180 daltons.

Dissacarídeo importante em alimentos, a sacarose apresenta com a ligação glicosídica o comprometimento das duas funções anoméricas, a aldeídica da glucose e a cetônica da frutose; assim, um resíduo é a fração aglicona do outro, e o dissacarídeo não apresenta capacidade de reduzir os sais de cobre do reativo analítico. Essa ligação é relativamente lábil, podendo ser hidrolisada em meio levemente ácido e assim liberando os dois monossacarídeos, então redutores. As enzimas frutofuranosidase (invertase de levedura) e a glucopiranosidase (hidrolise pancreática) são capacitadas a hidrolisá-la por mecanismos distintos, reconhecendo a função aglicona compreendida no nome trivial.

A hidrólise de sacarose representa um fenômeno importante sob vários pontos de vista. Em atenção ao fato de ser um ingrediente da culinária e portanto fazer parte da dieta dos seres humanos, cumpre observar que a sacarose é hidrolisada no intestino delgado e a molécula de glucose é absorvida rapidamente por processo ativo, isto é, contra gradiente de concentração, sendo conduzida diretamente ao fígado através do sistema portal. Já a frutose é absorvida a favor do potencial químico, entra nas células do epitélio intestinal e nos processos de geração de energia química. Do ponto de vista tecnológico, o processo é precursor das atividades de fermentação da sacarose da cana-de-açúcar na produção de álcool ou de bebidas alcoólicas.

A presença de sacarose em um alimento, processado ou não com tratamento térmico, é acompanhada com a de glucose e de frutose em maior ou menor grau. A esse conjunto de açúcares, a sacarose, a frutose e a glucose, denomina-se açúcar invertido, numa alusão ao método de análise por polarimetria: quando a sacarose é hidrolisada, a fração de frutose liberada faz com que o plano da luz polarizada apresente um deslocamento para a esquerda, pois esta cetohexose é levorrotatória.

Sucos de frutas são exemplos de alimentos naturais que contêm a mistura desses três açúcares solúveis, com quantitativos dependentes do tipo e do estado de maturação. O teor de ácidos orgânicos presentes inibe qualquer processo de formação do enediol redutor, não havendo, portanto, interconversão das hexoses por essa via. O conjunto de seus componentes açucarados e de ácidos orgânicos possibilita o estabelecimento de uma qualidade sensorial harmônica, mormente quando a fruta está em seu estado de maturação para uso de mesa.

Produto mais elaborado e engenheirado de forma a apresentar um padrão de qualidade, os refrigerantes constituem-se em um alvo constante de *marketing* e um mercado crescente. A presença de açúcar invertido, o uso de ácidos orgânicos, a gaseificação e a temperatura são fatores importantes nesse importante segmento de mercado. O açúcar fornece a sensação de dulçor e de brilho, a acidez contribui com a estabilidade do produto e o gás, com a sensação de refrigeração, em um conjunto harmônico. O açúcar invertido, nesse caso, passa a ser um importante indicador do grau de qualidade do produto, um dos poucos com padrão de qualidade definido.

Uma vez que a sacarose, a glucose e a frutose são açúcares tão presentes nos hábitos alimentares, sobretudo dos consumidores mais jovens, e tendo-se em vista que a dosagem dos açúcares deve ser precisa para o controle de qualidade, em que pese já existirem metodologias oficiais para esse controle, procurou-se neste trabalho, estudar um pouco a respeito da comparação dos métodos Somogyi-Nelson e Lane-Eynon, assim como a influência que possa ter o procedimento de hidrólise químico ou enzimático da sacarose sobre os resultados analíticos.

No primeiro método, o açúcar aquecido com uma solução alcalina de tartarato de cobre leva à obtenção de óxido cuproso que, reagindo com molibdato de arsênio, possibilita a produção de um composto de coloração azul passível de ser quantificada por colorimetria; a adição de sulfato de sódio à mistura minimiza a entrada de oxigênio na solução, responsável pela reoxidação do óxido cuproso. No segundo, o de Lane-Eynon, observa-se que o nome Fehling encontra-se associado aos reativos utilizados na redução do cobre, pois foi o primeiro pesquisador a indicar as proporções adequadas dos reagentes e dar ao método uma base analítica sólida. O reativo de Fehling, uma mistura de sulfato de cobre e soda cáustica, contém ácido tartárico para manter o hidrato cúprico em solução. O método de Lane-Eynon se baseia no fato de que os sais cúpricos, em solução tartárica alcalina, podem ser reduzidos a quente por aldoses ou cetoses transformando-se em sais cuprosos vermelhos, que se precipitam, perdendo sua cor azul primitiva. O tartarato, ao unir-se ao cobre, formando um complexo solúvel, impede a formação de hidróxido cúprico insolúvel que teria lugar se existisse cobre livre na solução alcalina. Como critério de positividade da reação verificase a formação de óxido cuproso vermelho, que precipita (LITWACK, 1967). Com função apenas referencial, o método do fenol sulfúrico foi escolhido para a dosagem dos açúcares totais por outra metodologia, a que preconiza o uso de meio fortemente ácido. Esse método, segundo Dubois et al. (1956), fundamenta-se no fato de que açúcares simples ou complexos, e seus derivados, incluindo metil ésteres com grupos redutores livres ou potencialmente livres, quando tratados com fenol e ácido sulfúrico concentrado dão coloração amarelo-alaranjado, com uma reação sensível e coloração estável; o método é simples, rápido, sensível e com resultados reprodutíveis.

2. Material e Métodos

2.1 Material

As amostras utilizadas para o trabalho foram soluções de glicose, frutose e sacarose a 1%, de sucos de maçã processados em nível de laboratório segundo procedimentos convencionais, e de refrigerantes de diferentes marcas, adquiridos no comércio local.

2.2. Métodos

2.2.1. Somogyi-Nelson

2.2.1.1. Determinação de açúcares redutores solúveis. A quantidade recomendada para a técnica é de 100 mg e, portanto, a amostra deve ser diluída adequadamente. O sistema de análise compreende 1 ml de amostra e 1 ml de reativo de Somogy em um tubo de Folin-Wu, que deve ser fervido durante 10 minutos, resfriado e após adicionar 1 ml de reativo de Nelson e completar o volume para 12,5 ml, a leitura da absorbância é feita em colorímetro a 520 nm.

2.2.1.2. Determinação de açúcares redutores totais. A inversão da sacarose pode ser feita por hidrólise ácida, utilizando-se 25 ml da amostra e completando-se o volume final para 100 ml com água destilada. A solução diluída e aquecida a 67-70°C, recebe a adição de 5 ml de HCl e permanece em banho-maria, durante 5 minutos, após o que o sistema é resfriado à temperatura ambiente e recebe cerca de 8 ml de solução de hidróxido de sódio 30%, até se verificar mudança de pH. A solução é transferida para um balão volumétrico de 100 ml, completando-se o volume com água destilada. Essa amostra contendo apenas açúcares redutores encontra-se diluída 1:4 e a partir daí deve ser feita a diluição necessária para a determinação, conforme descrito anteriormente.

No caso da hidrólise enzimática faz-se primeiramente a extração da enzima a partir da levedura de panificação seca (*Sacharomyces cerevisiae*), com adição de 5 ml de bicarbonato de sódio 0,1M, deixando-se a temperatura de 30°C a 35°C durante 6 horas. Após centrifugar a 3.000 rpm durante 10

minutos, o sobrenadante é dialisado contra água corrente durante 8 horas. Para o processo de inversão dilui-se a enzima extraída 1:25 em solução tampão pH 4,5 e incuba-se com a amostra diluída, na proporção de 1:1, durante 1 hora à temperatura de 40°C, após o que se faz a determinação de açúcares redutores.

2.2.2. Lane-Eynon

2.2.2.1. Determinação de açúcares redutores solúveis. Para essa determinação são misturados 5 ml da solução A e 5 ml da solução B dos reativos de Fehling, adicionam-se 50 ml de água destilada e leva-se à ebulição. Utiliza-se a amostra contendo açúcares redutores como agente titulante, e o aparecimento de precipitado vermelho como indicador do ponto de viragem.

2.2.2.2. Determinação de açúcares redutores totais. São utilizados os mesmos procedimentos hidrolíticos e analíticos descritos acima.

2.2.3 Fenol Sulfúrico

2.2.3.1. Determinação de açúcares totais. Essa técnica dispensa hidrólise da amostra, uma vez que utiliza ácido sulfúrico concentrado; o nível de sensibilidade é de 50 mg e para obter a quantidade padrão pode-se diluir 1:200 uma solução de glucose a 1g/100ml armazenada a frio. O sistema de reação compreende 1 ml de amostra ou de padrão e 1 ml de fenol, ao qual se adiciona, rapidamente, 5 ml de ácido sulfúrico concentrado. Como a reação é exotérmica, resfriar à temperatura ambiente antes de fazer a leitura da absorbância a 490 nm (DUBOIS et al., 1956).

3. Resultados e Discussão

Os resultados das análises dos teores de glucose, frutose e sacarose consoante o uso das técnicas de Somogyi-Nelson e Lane-Eynon e após hidrólise química ou enzimática são mostrados nas Tabela 1-A e 1-B,

respectivamente. Esses resultados demonstram ambas as técnicas como adequadas para a determinação precisa da quantidade de açúcar padrão, discriminando, todavia maior coeficiente de variação para o método titulométrico, de 4 a 13%. Quando as amostras contendo açúcares padrões foram submetidas aos procedimentos de hidrólise, os resultados das análises foram semelhantes, discriminando, em todos os casos, maiores índices de variabilidade no caso da técnica titulométrica; aparentemente as condições empregadas no processamento de hidrólise não foram drásticas o suficiente para prejudicar o processo de análise. Esses resultados sugerem que as técnicas de análise antes e após a hidrólise podem ser empregadas em amostras de alimentos líquidos sem maiores problemas.

Tabela 1- A. Teores de açúcares redutores (Somogyi - Nelson).

Padrões	Açúcares redutores g/100 ml	Açúcares redutores totais, g/100 ml		Açúcares totais FS g/100 ml
		Hidrólise enzimática	Hidrólise ácida	
Glucose 1%	1,05 ± 0,010 0,95%	0,98 ± 0,009 0,97%	1,05 ± 0,017 1,65%	0,99 ± 0,041 4,41%
Frutose 1%	0,98 ± 0,015 1,55%	1,10 ± 0,010 0,95%	1,08 ± 0,006 0,54%	0,71 ± 0,015 2,11%
Sacarose 1%	0	1,05 ± 0,051 4,82%	1,1 ± 0,014 1,03%	1,02 ± 0,017 1,67%

Tabela 1- B. Teores de açúcares redutores (Lane - Eynon).

Padrões	Açúcares redutores g/100 ml	Açúcares redutores totais, g/100 ml		Açúcares totais FS g/100 ml
		Hidrólise enzimática	Hidrólise ácida	
Glucose 1%	1,01 ± 0,132 13,10%	1,06 ± 0,039 3,64%	1,03 ± 0,020 1,97%	0,99 ± 0,041 4,41%
Frutose 1%	1,00 ± 0,040 4,00%	1,17 ± 0,037 3,17%	1,05 ± 0,010 1,00%	0,71 ± 0,015 2,11%
Sacarose 1%	0	1,02 ± 0,015 1,45%	1,02 ± 0,019 1,96%	1,02 ± 0,017 1,67%

Os sucos de maçãs apresentaram valores semelhantes de açúcares redutores quando analisados pelas duas técnicas (Tabela 2 A e Tabela 2 B) tendo sido observado aqui, novamente, menor variabilidade quando as medidas foram feitas com a de Somogyi-Nelson. A salientar, nesses resultados, que os coeficientes de variação foram bem superiores aos dos observados quando as análises foram feitas com açúcares padrões. Após a hidrólise enzimática, os valores de açúcares redutores totais apresentaram um perfil semelhante para as duas técnicas, sendo ligeiramente inferiores aos apresentados após a hidrólise química, sem significância estatística. Novamente observa-se que os coeficientes de variação dos resultados de Somogyi-Nelson foram inferiores aos de Lane-Eynon.

Tabela 2 A - Teores de açúcares em suco de maçã (Somogyi-Nelson)

Sucos de maçã	Açúcares redutores g/100 ml	Açúcares redutores totais, g/100 ml		Açúcares totais FS g/100 ml
		Hidrólise enzimática	Hidrólise ácida	
Imperatriz	10,81 ± 0,27	11,40 ± 0,16	12,68 ± 0,21	11,78 ± 0,55
	2,46%	1,36%	1,66%	4,63%
Fuji	10,48 ± 0,61	12,91 ± 0,86	12,68 ± 0,40	12,11 ± 0,62
	5,80%	6,67%	3,12%	5,11%
Condessa	8,93 ± 0,36	11,69 ± 0,64	11,50 ± 0,18	10,98 ± 0,08
	3,98%	5,48%	1,58%	0,71%

Tabela 2 B - Teores de açúcares em suco de maçã (Lane-Eynon)

Sucos de maçã	Açúcares redutores g/100 ml	Açúcares redutores totais, g/100 ml		Açúcares totais FS g/100 ml
		Hidrólise enzimática	Hidrólise ácida	
Imperatriz	9,87 ± 0,46	11,13 ± 0,49	12,19 ± 0,17	11,78 ± 0,55
	4,68%	4,43%	1,38%	4,63%
Fuji	10,64 ± 0,94	12,24 ± 0,25	12,00 ± 0,15	12,11 ± 0,62
	8,85%	2,08%	1,25%	5,11%
Condessa	8,73 ± 0,55	11,39 ± 0,08	11,3 ± 0,21	10,98 ± 0,08
	6,31%	0,66%	1,84%	0,71%

Nas tabelas 3 A e 3 B são apresentados os resultados das análises com relação aos refrigerantes, e comparando-se a coluna que se refere aos teores de açúcares redutores nota-se boa concordância, evidenciando-se a diferença qualitativa das amostras. O mesmo se pode dizer com relação às amostras hidrolisadas mas evidenciando que as amostras são mais homogêneas nesse indicador – praticamente todas estão incluídas na faixa de 10,50-11,50 g/100 ml. Os coeficientes de variação observados foram inferiores aos observados nos experimentos precedentes.

Tabela 3 A - Teores de açúcares em refrigerantes (Somogy Nelson)

Refrigerantes	Açúcares redutores g/100 ml	Açúcares redutores totais, g/100 ml		Açúcares totais FS g/100 ml
		Hidrólise enzimática	Hidrólise ácida	
Tipo cola 1	7,34 ± 0,27 3,74%	11,32 ± 0,30 2,61%	11,17 ± 0,39 3,30%	11,71 ± 0,03 0,28%
Tipo cola 2	1,80 ± 0,11 6,11%	11,49 ± 0,53 4,59%	11,61 ± 0,24 1,04%	11,67 ± 0,20 1,73%
Gengibirra	3,34 ± 0,05 3,98%	10,00 ± 0,08 0,80%	11,30 ± 0,64 5,67%	11,11 ± 0,21 0,91%
Framboesa	3,91 ± 0,05 1,32%	10,84 ± 0,43 3,98%	11,09 ± 0,03 0,23%	14,44 ± 0,075 5,19%
Guaraná	1,86 ± 0,25 13,31%	10,53 ± 0,53 5,02%	11,48 ± 0,24 2,05%	11,10 ± 0,09 0,81%
Tipo cola 3	7,88 ± 0,14 1,73%	11,50 ± 0,34 2,94%	11,86 ± 0,27 2,23%	11,53 ± 0,22 1,89%

Tabela 3 B - Teores de açúcares em refrigerantes (Lane Eynon)

Refrigerantes	Açúcares redutores g/100 ml	Açúcares redutores totais, g/100 ml		Açúcares totais FS g/100 ml
		Hidrólise enzimática	Hidrólise ácida	
Tipo cola 1	7,13 ± 0,24 3,32%	11,07 ± 0,08 0,68%	11,09 ± 0,27 2,41%	11,71 ± 0,03 0,28%
Tipo cola 2	1,92 ± 0,02 1,20%	11,39 ± 0,34 2,96%	11,34 ± 0,21 1,85%	11,67 ± 0,20 1,73%
Gengibirra	3,77 ± 0,32 8,53%	11,09 ± 0,39 3,48%	11,57 ± 0,25 2,18%	11,11 ± 0,21 0,91%
Framboesa	3,51 ± 0,10 2,71%	10,74 ± 0,18 1,66%	11,50 ± 0,26 2,30%	14,44 ± 0,075 5,19%
Guaraná	1,98 ± 0,13 6,33%	11,08 ± 0,32 2,92%	11,54 ± 0,14 1,21%	11,10 ± 0,09 0,81%
Tipo cola 3	7,30 ± 0,12 1,70%	11,12 ± 0,19 1,74%	12,04 ± 0,83 6,86%	11,53 ± 0,22 1,89%

Ao serem analisados os resultados totais em termos de sua correlação, observa-se um coeficiente de +0,992, e a dispersão dos dados encontra-se ilustrada na Figura 1; observando-se o gráfico de regressão linear entre as metodologias de Somogyi – Nelson e Lane – Eynon para açúcares redutores solúveis verifica-se que a equação da reta explica 99% da variação entre os métodos.

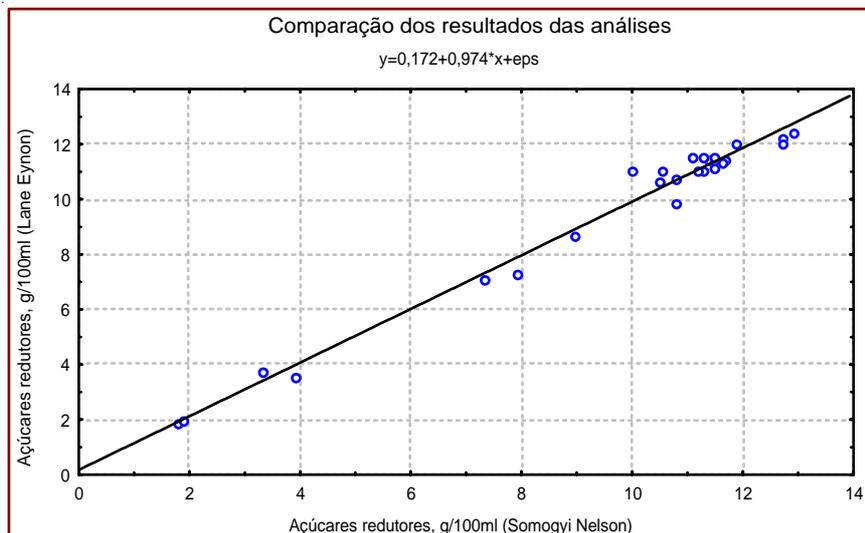


Figura 1 - Comparação dos resultados das análises de açúcares redutores

Pode-se observar que as metodologias utilizadas não apresentam grande diferença de resultados, tanto na hidrólise ácida quanto na enzimática. O mesmo foi demonstrado através dos coeficientes de variação calculados para as triplicatas. Além do cálculo do coeficiente de variação, fez-se a análise de variância e verificou-se que ao nível de 1% de significância não há diferença significativa entre as metodologias aplicadas.

4. Conclusão

Embora tenham ocorrido variações nos valores dos coeficientes de variação, os resultados obtidos a partir de triplicatas foram analisados estatisticamente e verificou-se que tanto em amostras de concentração conhecida quanto em amostras de sucos de maçã e refrigerantes os métodos utilizados não apresentaram diferença significativa ao nível de 1% de significância. Isso indica que qualquer um dos métodos avaliados pode ser usado na quantificação de açúcares redutores e totais em alimentos, com a obtenção de resultados confiáveis e seguros.

Recebido para publicação em 09/07/02.

Aceito para publicação em 22/08/02.

ABSTRACT

Glucose, fructose and sucrose, soluble sugars found in many kinds of foods, have structural features that allow their quantification by many analysis techniques. The monosaccharide glucose has an aldehyde function while the monosaccharide fructose has a free ketone function which enable them to cause a chemical reduction of cations such as copper and silver. Thus both monosaccharides are converted into oxidized sugar derivatives. Sucrose, however, has two monosaccharides residues in its structure that impair its anomeric groups and is therefore unable to cause chemical reductions in these kinds of cations. In order to obtain sucrose samples with the aim of quantifying them by means of reducing sugar methods, it is first necessary to promote hydrolysis with strong acids or with enzymes. In this work two analytical procedures concerning the determination of the proportion of reducing sugar were evaluated, as well as two preparative procedures concerning sucrose hydrolysis. This standard sugar samples studied here were glucose, fructose and sucrose, all at 1g/100ml. The food samples containing sugar were three fresh apple juices and six commercial carbonated soft drinks. The results were evaluated by simple statistical methods and showed that there was no significant difference, either in standard sugar samples or in food samples.

Key words: sugar; analysis; reducing sugar; total sugar

Endereço: wosiacki@uol.com.br

REFERÊNCIAS

1 BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Introdução à Química de Alimentos**. 2 ed. São Paulo: Varela, 1989.

2 BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Química do processamento de alimentos**. 2 ed. São Paulo: Varela, 1992.

3 BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Manual de laboratório de Química de Alimentos**. 2 ed. São Paulo: Varela, 1995.

78

4 DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric Method for determination of sugars and related compounds. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350 - 356, 1956.

5 INSTITUTO ADOLFO LUTZ - Normas Analíticas. Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos. São Paulo: IAL, 1976.

6 LASZLO, H.; BASSO, L. M.; COELHO, C. M. de L. **Química de alimentos: alteração dos componentes orgânicos**. São Paulo: Nobel, 1986. p. 65 - 69.

7 LITWACK, G. **Bioquímica Experimental: um manual de laboratório**. Barcelona: Espanha, 1967. p. 23-30.

8 MONTES, A. L. **Bromatologia**. Argentina: Editora Universitária de Buenos Aires, 1969.