
METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO CALORIMÉTRICA DA URINA

Luciana Pinto Rodrigues¹
Gilberto João Padovan¹
Vívian Marques Miguel Suen¹
Júlio Sérgio Marchini¹

¹Laboratório de
Espectrometria de
Massa, Nutrologia,
Departamento de
Clínica Médica,
Faculdade de
Medicina de Ribeirão
Preto, USP-SP.

RODRIGUES, Luciana Pinto et al. Metodologia para determinação calorimétrica da urina. *Salusvita*, Bauru, v. 24, n. 2, p. 219-225, 2005.

RESUMO

Utilizando-se uma bomba calorimétrica, foi realizada a padronização de uma metodologia para determinação direta da energia presente na urina, secando-se amostras de 2 mL a 100°C, por 7 horas, e em seguida colocando-as em um dessecador por mais 15 horas. A seguir, foram adicionados às amostras de urina seca 400 mg de óleo mineral, utilizado como spike. Testes de recuperação foram realizados com soluções de açúcar, nas concentrações de 30, 60 e 90%, apresentando, respectivamente, uma recuperação de 98%, 81% e 95%, cujo coeficiente de variação foi 5% (n=40). Os resultados obtidos mostraram que o método de processamento da urina desenvolvido para detecção calorimétrica, apresentou uma ótima reprodutibilidade, sendo, por isso, considerado confiável e adequado para a detecção da energia presente na amostra.

Recebido em: 28/3/2004.
Aceito em: 12/1/2005.

PALAVRAS-CHAVE: calorimetria direta; urina; método

INTRODUÇÃO

Os valores energéticos de alimentos e dietas são usualmente calculados por métodos fatoriais, baseados na composição aproximada da somatória do valor calórico de proteínas, lipídeos e carboidratos e por meio de fatores gerais de conversão de energia, isto é, 4 kcal/g de proteína, 9 Kcal/g de lipídeo e 4 Kcal/g de carboidrato (LIVESEY, 1991).

A quantidade de energia disponível nas dietas consumidas para a manutenção e desempenho humano é de fundamental importância na nutrição (LIVESEY, 1995). Essa energia disponível é denominada energia metabolizável. Os métodos fatoriais não são satisfatórios para determinar a energia realmente disponível em alimentos ricos em fibras e nem quando um alto nível de precisão é requerido, como situações em que a calorimetria direta deve ser usada (MILLER; PAYNE, 1959). A energia metabolizável pode ser avaliada subtraindo-se um valor correspondente à energia perdida do alimento quando ingerido, devido à inabilidade dos animais para oxidar o nitrogênio completamente (MILLER; PAYNE, 1959). Perdas energéticas na urina são significativas somente para proteína, porque o produto de sua oxidação, a uréia, ainda contém uma quantidade apreciável de energia (MILLER; JUDD, 1984).

Os métodos empregados para determinação do conteúdo de macro, micronutrientes e valores energéticos em tabelas de composição de alimentos diferem e, algumas vezes, o conteúdo de carboidrato é determinado pela diferença entre o total e os demais macronutrientes, e não diretamente. Quando tal macronutriente é calculado pela diferença em relação aos demais, ele inclui em seu conteúdo o teor de fibras presente no alimento, que é multiplicado pelo fator para o cálculo da energia, implicando em um valor metabolizável para um componente indigerível (MILLER; JUDD, 1984). Miller e Judd (1984) comparam os valores de energia metabolizável de alimentos ricos em fibras encontrados por meio de tabelas e pela calorimetria direta, como podemos observar na TABELA 1.

A calorimetria direta é o método em que o valor energético dos alimentos é determinado pela queima direta dos mesmos, em uma câmara de combustão em presença de oxigênio puro, e o calor produzido pela combustão é, então, medido diretamente em relação ao padrão utilizado (MILLER; JUDD, 1984). Assim, o termo calor de combustão, como o que é medido na bomba calorimétrica, denota o calor liberado pela combustão de todo carbono e hidrogênio em presença do oxigênio, para formar dióxido de carbono e água, incluindo o calor liberado pela oxidação de outros elementos, como o enxofre que pode estar presente na amostra.

RODRIGUES,
Luciana Pinto et.
al. Metodologia
para determinação
para determinação
calorimétrica da
urina. *Salusvita*,
Bauru, v. 24, n. 2,
p. 219-225, 2005.

RODRIGUES,
Luciana Pinto et al.
Metodologia para
determinação
calorimétrica da
urina. *Salusvita*,
Bauru, v. 24, n. 2,
p. 219-225, 2005.

TABELA 1 – Conteúdo energético de alimentos segundo tabelas (dados fatoriais) e segundo avaliação da energia metabolizável.

Alimentos	Energia referida nas tabelas (Kcal/100 g de alimento)	Energia Metabolizável (Kcal por 100 g de alimento consumido)
Feijões congelados (12 g de fibra/100 g)	41	34
Espinafre (6,3 g/100 g)	30	24
Coco (13,6 g/100 g)	351	294
Amêndoa (14,3 g/100 g)	565	502
Azeitona (4,4 g/100 g)	103	84
Damasco seco (24 g/100 g)	182	171

* Adaptado de Miller e Judd (1984).

Para se determinar o valor da energia metabolizável presente nas dietas é necessário que se faça a determinação das calorias existentes no alimento e a energia que está sendo eliminada nas fezes e na urina (MILLER; JUDD, 1984).

Apesar de existirem fórmulas que utilizam a quantidade de nitrogênio presente na urina para estimar as calorias eliminadas, a técnica da calorimetria direta é ainda a mais precisa, uma vez que analisa diretamente a energia presente na amostra. Por isso, o objetivo deste trabalho foi o de padronizar uma metodologia para determinação direta da energia presente na urina, utilizando-se uma bomba calorimétrica.

MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta de urina utilizada

Foram utilizadas amostras de urina de ratos wistar, machos e adultos, que pesavam cerca de 180 g, fornecidos pelo Biotério Central do Campus da USP de Ribeirão Preto. Os animais foram alojados em gaiolas metabólicas metálicas, nas quais foram colocados funis na parte inferior, contendo em seus interiores lã de vidro, que retém material insolúvel, para a coleta de urina isenta de resíduos durante 24 horas. As amostras de urina foram coletadas em provetas contendo 3 gotas de HCl 6N e imediatamente congeladas a -20°C até o seu uso.

Preparo da amostra para análise

As amostras foram descongeladas, homogeneizadas e a seguir 2 mL de urina foram colocados em um cadinho metálico e secos em estufa ventilada a 100°C, por 7 horas. Em seguida, as amostras foram transferidas para um dessecador contendo pastilhas de hidróxido de sódio, para absorção da umidade, por aproximadamente 15 horas. Todas as amostras pesavam cerca de 2 g em estado líquido e foram secas e analisadas sempre em duplicata (por exemplo, 1 e 1'). Depois de secas, as amostras pesavam aproximadamente 0,2 g.

Determinação calorimétrica das urinas

Para determinação da energia presente nas amostras foi adicionado à urina seca óleo mineral puro. O óleo mineral, que apresenta um valor calórico de 11.000 calorias, foi utilizado como *spike*. Cerca de 400 mg de óleo, pesados em balança analítica, foram adicionados a cada amostra. A quantidade de óleo adicionada foi inserida no programa de cálculo do equipamento, bem como o peso seco da amostra a ser quantificada. Estes dados fizeram parte do cálculo final do valor calórico, realizado pela bomba calorimétrica PARR 1265, que expressa os resultados em calorias por grama. Uma caloria corresponde a 4,1868 Joules (J) e é definida como a energia necessária para aumentar a temperatura de um grama de água em um grau Celsius, à temperatura de 15°C.

Teste de Recuperação

As concentrações das soluções de açúcar utilizadas para os testes de recuperação foram de 30, 60 e 90%. Foram realizados 10 testes de recuperação para cada uma das concentrações utilizadas.

Padrão

Pastilhas de ácido benzóico, com valor calórico de 6.318 cal/g, foram utilizadas como padrão. O ácido benzóico é utilizado como uma substância de referência para combustíveis calorimétricos, porque ele se queima completamente em presença do oxigênio. Além disso, não é higroscópico e está disponível em uma forma muito pura.

RODRIGUES,
Luciana Pinto et.
al. Metodologia
para determinação
calorimétrica da
urina. *Salusvita*,
Bauru, v. 24, n. 2,
p. 219-225, 2005.

RODRIGUES,
Luciana Pinto et al.
Metodologia para
determinação
calorimétrica da
urina. *Salusvita*,
Bauru, v. 24, n. 2,
p. 219-225, 2005.

RESULTADOS

O valor calórico das amostras de urina seca encontra-se representado na TABELA 2.

TABELA 2 – Peso da urina seca e valor calórico obtido após análise em bomba calorimétrica.

Amostra	Peso da urina seca	Valor calórico (cal/g)
1	0,1980	2249,26
1'	0,2006	2245,87
2	0,2041	2086,60
2'	0,2153	2050,41
3	0,2182	2081,60
3'	0,2143	2058,28
4	0,2054	2011,81
4'	0,2075	1982,39
5	0,2082	2010,37
5'	0,2188	1999,54
6	0,2318	1953,85
6'	0,2215	2035,06
7	0,2295	2112,53
7'	0,2250	2280,60
8	0,2132	2260,20
8'	0,2095	2228,52
9	0,2222	2218,82
9'	0,2034	2067,25
10	0,2008	2099,59
10'	0,1991	2090,24
11	0,2439	2266,08
11'	0,2423	2157,23
12	0,2361	2060,10
12'	0,2360	1949,18
13	0,2119	1991,52
13'	0,2144	2130,98
14	0,2109	2167,80
14'	0,2254	2061,00
15	0,2156	1921,35
15'	0,2255	1902,59
16	0,2364	1988,86
16'	0,2355	1914,88
17	0,2386	2166,14
17'	0,2379	2109,31
18	0,2362	1952,49
18'	0,2317	2135,34
19	0,2321	2169,78
19'	0,2168	2067,80

* Média de cal/g de amostra de urina seca: 2081,80
Amostras analisadas em duplicata (por exemplo, 1 e 1').

O teste de recuperação, realizado pela adição à urina seca de solução de sacarose a 30%, 60% e 90%, foi respectivamente de 98%, 81% e 95%. O coeficiente de variação foi de 5% (n=40).

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

A energia metabolizável das dietas é determinada pela diferença entre as calorias existentes no alimento e a energia eliminada nas fezes e na urina (MILLER; JUDD, 1984). As calorias presentes na urina, de uma maneira geral, são determinadas por técnicas indiretas, utilizando-se fórmulas que consideram o nitrogênio existente na amostra. Uma determinação mais precisa poderia ser realizada pela quantificação direta das calorias por meio de uma bomba calorimétrica, não sendo esta freqüentemente relatada na literatura. Provavelmente, o processamento da amostra de urina para análise calorimétrica seja o fator responsável pela pouca utilização de tal método. Normalmente, o valor calórico das amostras de urina é muito pequeno, ficando abaixo do limite de sensibilidade do calorímetro. Análises realizadas em nosso Laboratório para determinação do valor calórico da urina em estado líquido não apresentaram reprodutibilidade, necessitando a padronização de uma metodologia de secagem de urina que garantisse confiabilidade a estas análises. Para a realização destas foi necessária a adição de óleo mineral à amostra de urina, com o objetivo de aumentar o valor calórico da mesma, permitindo a detecção das calorias presentes na amostra. Os resultados obtidos mostraram que o método de processamento da urina desenvolvido para detecção calorimétrica, apresentou uma ótima reprodutibilidade, sendo, por isso, considerado confiável e adequado para a detecção da energia presente na amostra.

REFERÊNCIAS

1. LIVESEY, G. Calculating the energy values of foods: Towards new empirical formulae based on diets with varied intakes of unavailable complex carbohydrates. *Eur J. Clin. Nutr.* v. 45, n. 1, p. 1-12, 1991.
2. LIVESEY, G. Metabolizable energy of macronutrients. *Am J. Clin Nutr.* v. 62, p. 1135S-1142S, 1995.

RODRIGUES,
Luciana Pinto et.
al. Metodologia
para determinação
calorimétrica da
urina. *Salusvita*,
Bauru, v. 24, n. 2,
p. 219-225, 2005.

RODRIGUES,
Luciana Pinto et al.
Metodologia para
determinação
calorimétrica da
urina. *Salusvita*,
Bauru, v. 24, n. 2,
p. 219-225, 2005.

3. MILLER, D. S.; JUDD, P. A. The metabolisable energy value of foods. *J. Sci Food Agric.* v. 35, p. 111-116, 1984.
4. MILLER, D. S.; PAYNE, P. R. A ballistic bomb calorimeter. *Brit J. Nutr.* v. 13, p. 501-508, 1959.

