

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

A batata-doce é uma interessante biomassa alternativa à cana-de-açúcar para a produção de etanol no Rio Grande do Sul, devido ao seu elevado potencial produtivo e teor de amido. Apesar de toda batata-doce ser rica em amido, observa-se uma variação entre 16 a 25% deste componente. Estudos identificaram o teor de umidade como o principal fator relacionado ao teor de amido, ou ao teor de ART (Açúcares Redutores Totais), que contabiliza a glicose do amido. Com a relação Umidade x ART é possível estimar o potencial de produção de etanol de uma batata. Contudo, para a adequada construção da curva Umidade x ART é necessário um método eficiente de quantificação de ART.

Um método enzimático padrão de quantificação, baseado no método da AOAC nº 996.11, é comercializado pela empresa Megazyme e tem sido muito referenciado na literatura, porém o kit de determinação é caro. Desta forma, este estudo foi realizado visando propor resultados para a construção de um método alternativo mais barato, tendo como referência para a validação o Método da Megazyme.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado em duas etapas:

1. Estudo do pré-tratamento da amostra: fresca x seca

Nesta fase o método de hidrólise foi fixado, sendo realizado de acordo com o procedimento da Megazyme (Figura 1). A batata em cubos foi seca em estufa a 60°C por 8h e moída (partículas de 0,5 mm), enquanto que a batata fresca (úmida) foi triturada em processador doméstico (partículas de 2 mm). A determinação de glicose foi realizada comparativamente em espectrofotômetro e em HPLC. Para a análise no espectrofotômetro (absorbância em 510 nm), foi adicionado às amostras o reagente GOPOD que vem junto ao kit comercial da Megazyme para a produção de cor. Na determinação por HPLC, usou-se a coluna Hi-Plex H da Agilent, tendo água como fase móvel a uma vazão de 0,6 mL/min e temperatura de 60°C.

2. Estudo variando os métodos de hidrólise

Foram comparados cinco métodos de hidrólise, conforme a Figura 1: Megazyme, Stargen 002 (a), (b) e (c) e hidrólise ácida. A Stargen 002 é uma enzima que foi desenvolvida para a hidrólise do amido e produção de etanol, e neste trabalho foi testada a sua aplicabilidade em método analítico, por ser uma enzima mais barata. Nesta fase, deu-se continuidade ao estudo empregando o método de pré-tratamento selecionado na Etapa 1, e a batata-doce foi amadurecida por 25 dias para todos os métodos, visando facilitar a hidrólise, conforme resultados prévios (Schweinberger *et al.* (2015)), onde os autores utilizaram a enzima Stargen 002 e tampão de ácido cítrico. Portanto, no presente estudo, na hidrólise com a Stargen 002, foi utilizado este tampão e no procedimento da Megazyme foi usado o tampão de ácido acético, conforme recomendado no método.

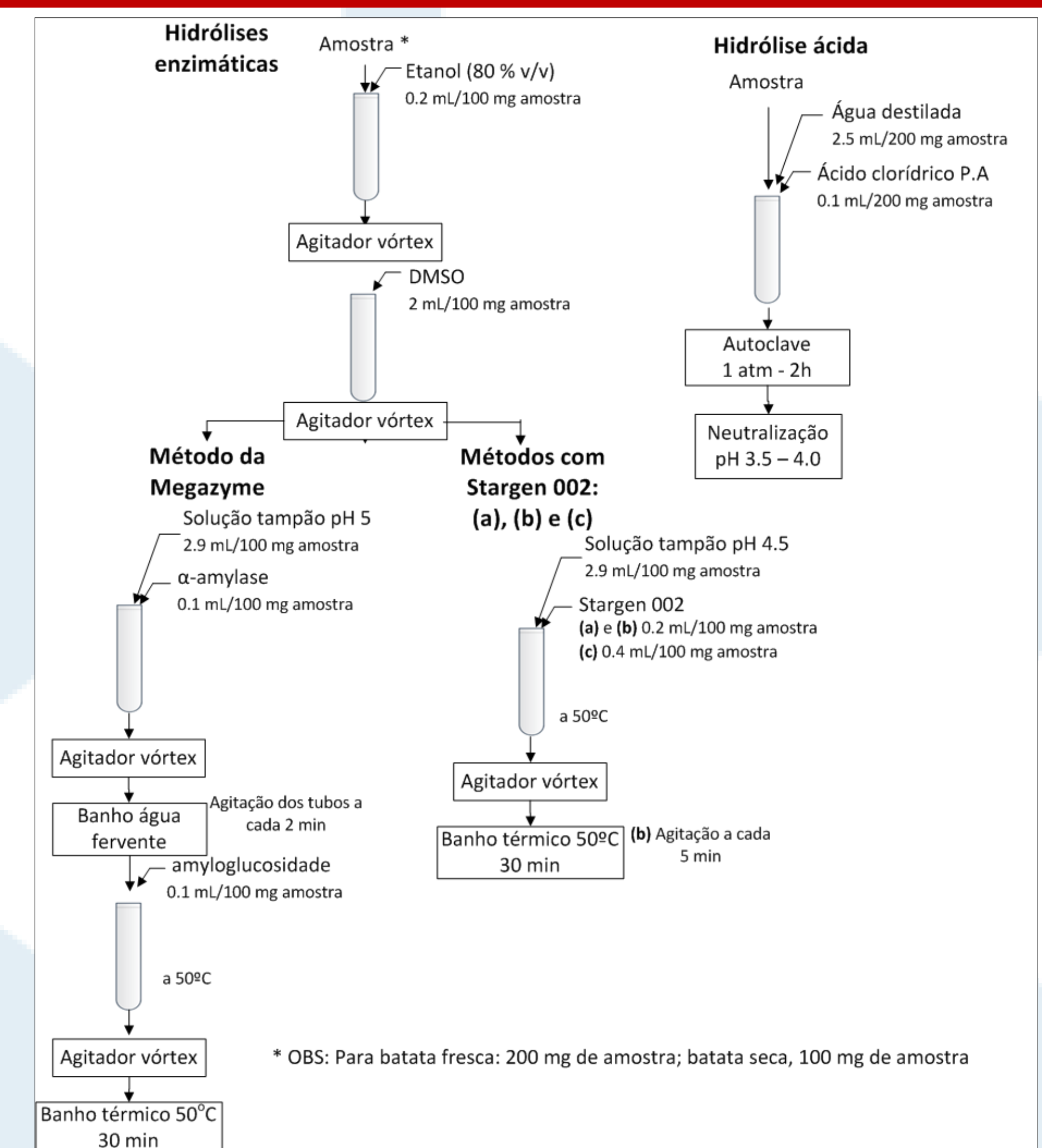


Figura 1. Fluxograma comparativo entre as hidrólises ácida e enzimáticas

RESULTADOS E DISCUSSÕES

1. Estudo do pré-tratamento da amostra: fresca x seca

A partir dos resultados da Tabela 1, ficou clara a superioridade da batata fresca em relação à seca. Estes fatores podem ser justificados pela coesão da farinha seca durante a hidrólise, dificultando o acesso das enzimas, e uma certa degradação térmica dos açúcares durante a secagem a 60°C.

Tabela 1. Glicose total na batata-doce (% m/m).

Preparo da amostra	Fresca		Seca	
	Espectrofotômetro	HPLC	Espectrofotômetro	HPLC
Replicata 1	29,60	^a Ins.	21,01	20,64
Replicata 2	27,27	28,38	24,19	21,62
Replicata 3	25,28	27,03	21,82	22,75
Replicata 4	31,40	32,83	25,37	24,69
Média ^{Obs 1}	28,39 ^A	29,41 ^A	23,10 ^B	22,42 ^B
CV ^{Obs 2}	9,42	10,31	8,78	7,76

^aInfelizmente, grande parte dessa amostra foi perdida, tornando a análise em HPLC inviável.

Quanto aos métodos de detecção, não houve diferença significativa entre eles. A análise em espectrofotômetro é mais barata, mas o HPLC se demonstra mais interessante por quantificar outras contribuições para a determinação dos ART, como a frutose e a sacarose, além de ser um procedimento mais prático quando se utiliza injeção automática. Desta maneira, continuou-se o estudo com a batata fresca e o HPLC.

^{Obs 1} As médias que não compartilham a mesma letra são significativamente diferentes, segundo o teste de Tukey, com 95% de confiança.

^{Obs 2} CV é o coeficiente de variação, sendo a relação entre o desvio padrão e a média (DP/M), nos resultados o CV é dado em %.

2. Estudo variando os métodos de hidrólise

Tabela 2. Glicose total na batata-doce (% m/m).

Replicata	Megazyme	Método de Hidrólise			Ácida
		(a)	(b)	(c)	
1	21,86	17,27	29,56	18,35	14,80
2	27,26	15,91	21,17	13,84	25,35
3	22,11	17,39	21,53	16,87	24,44
4	23,92	22,16	16,37		
Média ^{Obs 1}	23,79 ^A	18,18 ^A	22,16 ^A	16,35 ^A	21,53 ^A
CV ^{Obs 2}	10,48	15,04	24,69	14,08	27,15

Pelo teste de Tukey não houve diferença significativa entre as médias, devido à considerável variabilidade dos resultados. Contudo, dentre as diferentes variações com a Stargen 002, viu-se que a agitação mecânica se demonstrou bastante importante (b). De acordo com as observações experimentais, duas questões devem ser ressaltadas sobre a hidrólise com a Stargen: (1) viu-se que esta enzima carrega açúcares na sua composição e, portanto, um branco foi preparado para descontar este efeito; e, (2) viu-se que o tampão de ácido cítrico deve ser substituído pelo de ácido acético, pois em testes complementares se percebeu que as amostras da Megazyme, que continham este tampão, apresentaram menor degradação de glicose por contaminação microbiológica.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos indicaram que mais estudos devem ser desenvolvidos, a fim de se aprimorar o processo de hidrólise do amido. Portanto, segue em andamento experimentos comparativos com as hidrólises ácida e enzimática, utilizando as enzimas da Megazyme, a Stargen 002 com o método (b) selecionado, o tampão de ácido acético e, por fim, avaliando-se as possíveis interferências na hidrólise ácida.

REFERÊNCIA: Schweinberger *et al.* Ethanol production from sweet potato: effect of ripening, comparison of two heating methods, and cost analysis. **Canadian Journal of Chemical Engineering** (artigo aceito para a publicação), 2015.

AGRADECIMENTOS: à MSc. Cristiane Martins Schweinberger, à Prof. Dra. Luciane Ferreira Trierweiler e ao CNPq.