

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

A batata-doce é uma 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 proveniente da hidrólise do amido e os açúcares livres da batata-doce. Com a relação Umidade x ART é possível estimar o potencial de produção de etanol de uma batata. Contudo, para a construção adequada da curva Umidade x ART é necessário um método eficiente de quantificação de ART. Um método enzimático padrão, 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

Etapas do Estudo:

	Hidrólise	Fatores investigados	Quantificação
ETAPA 1	Megazyme	- Batata fresca - Batata seca	- HPLC - Espectrofotômetro
	Megazyme		- HPLC
ETAPA 2	Stargen	- Necessidade de agitação - Dosagem	- HPLC
	Ácida		- HPLC
ETAPA 3	Megazyme		- HPLC
	Stargen	- Método de agitação - Tampão - Presença da casca	- HPLC
	Ácida	- Presença da casca	- HPLC - Espectrofotômetro

➤ **Etapa 1:** a batata 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).

➤ **Stargen 002:** mistura enzimática desenvolvida para a hidrólise do amido e produção de etanol → teste da aplicabilidade em método analítico, por ser mais barata que o kit da Megazyme.

➤ Etapas 2 e 3:

➤ Comparação dos resultados das hidrólises ácida e enzimática, utilizando as enzimas da Megazyme e a Stargen 002.

➤ **Agitação:** intermitente no vórtex e contínua no shaker (métodos (d) e (e) da Figura 1, respectivamente).

➤ Após selecionado o método de pré-tratamento na Etapa 1, a batata-doce foi amadurecida por 25 dias para todos os métodos, visando facilitar a hidrólise, conforme resultados prévios (Schweinberger *et al.* (2015)).

➤ Para a quantificação de glicose 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.

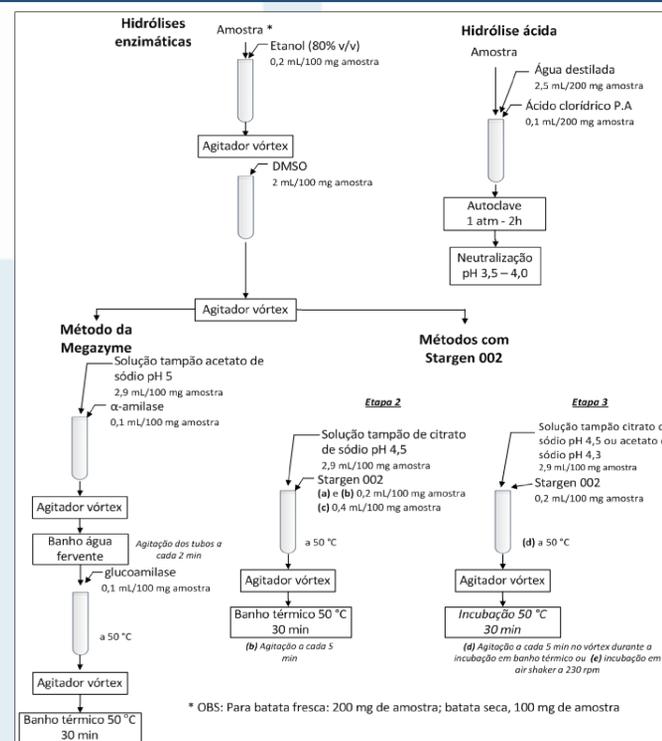


Figura 1. Fluxograma comparativo entre as hidrólises ácida e enzimáticas

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Etapa 1 (Tabela 1) – Superioridade da batata fresca em relação à seca, visto que o teor de glicose foi ~ 27% maior. Esse fator pode ser justificado pela coesão da farinha seca durante a hidrólise, dificultando o acesso das enzimas. Quanto aos métodos de detecção, não houve diferença significativa entre eles. Desta maneira, continuou-se o estudo com a batata fresca e o HPLC, por praticidade.

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
2	27,27	28,38	24,19	21,62
3	25,28	27,03	21,82	22,75
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.

Etapa 2 (Tabela 2) – Obtenção de teores significativamente menores com a Stargen 002, porém viu-se que a **agitação mecânica se demonstrou importante** e que a dosagem da enzima não teve influência positiva. Analisou-se a Stargen 002 a uma dose de 0,2 mL/100 mg (com ou sem agitação), e a uma dose de 0,4 mL/100 mg (sem agitação). No último caso, os resultados foram bastante inferiores, com teores de glicose < 2% e, portanto, não foram apresentados.

Deve-se ressaltar que, quando as amostras com a Stargen 002 foram analisadas, viu-se que essa enzima carrega açúcares e, portanto, um branco composto apenas da dosagem da enzima foi preparado para descontar esse efeito nas análises realizadas com esta enzima.

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

Replicata	Método de Hidrólise		
	Megazyme	Stargen 002 (0,2 mL/100 mg) (a) (b)	Ácida
1	21,86	8,75 (a) 20,98 (b)	14,80
2	27,26	7,43 (a) 12,52 (b)	25,35
3	22,11	8,73 (a) 12,98 (b)	24,44
4	23,92	13,61 (a) 7,86 (b)	-
Média Obs 1	23,79 ^A	9,63 ^C 13,59 ^{B,C}	21,53 ^{A,B}
CV Obs 2	10,48	28,26	40,08 27,15

Etapa 3 (Tabela 3) – a presença de casca e a solução tampão não causaram influência significativa na hidrólise. Além disso, na agitação em shaker não foi possível atingir uma mistura eficaz e, portanto, o teor de glicose com a Stargen 002 continuou sendo menor em relação ao método da Megazyme. Sobre a **hidrólise ácida**, com a quantificação dos ART em espectrofotômetro, foram **obtidos resultados satisfatórios** e mais próximos aos obtidos no método de referência da Megazyme.

Tabela 3. Glicose total na batata-doce (% m/m).

Rep.	Meg.	Stargen 002			Hidrólise ácida				
		Banho térmico Acet. de Sódio	Shaker Cit. de Sódio Acet. de Sódio		HPLC		Espectrofot.		
	S/casca	S/casca	Casca	Casca	Casca	S/casca	Casca	S/casca	Casca
1	31,54	15,24	15,34	10,90	8,07	25,37	49,72	27,23	27,75
2	28,38	12,87	15,77	13,80	14,75	42,66	26,40	23,97	27,35
3	28,10	11,92	17,59	14,99	11,57	40,49	40,33	27,25	26,70
4	29,09	16,65	*	*	*	25,13	38,25	27,85	26,02
Média Obs 1	29,28 ^{A,a}	14,17 ^B	16,24 ^B	13,23 ^B	11,47 ^B	33,41 ^a	38,67 ^a	26,57 ^a	26,95 ^a
CV Obs 2	5,34	15,25	7,37	15,89	29,14	28,35	24,79	6,63	2,80

* Os resultados foram descartados pois o teor de glicose foi menor que 5%.

^{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 %.

CONCLUSÕES

✓ Concluiu-se, entre os métodos alternativos, que a **hidrólise ácida demonstrou ser mais promissora**. Porém, recomenda-se que mais estudos sejam desenvolvidos, como intensificar a agitação ou reduzir a dosagem, a fim de se aprimorar o processo de hidrólise com a Stargen 002, uma vez que, se esse método fosse aperfeiçoado, poderia ser mais seguro, prático e barato que a hidrólise ácida.

REFERÊNCIAS:

SCHWEINBERGER *et al.* Ethanol production from sweet potato: effect of ripening, comparison of two heating methods, and cost analysis. *Canadian Journal of Chemical Engineering*, 2015.
SCHWEINBERGER, C. M. Inovação e Otimização no Processo de Produção de Etanol a partir de Batata-doce. 2016. 173 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química, UFRGS, Porto Alegre – RS, 2016.

AGRADECIMENTOS: Dra. Cristiane M. Schweinberger, Prof. Dra. Luciane F. Trierweiler e ao CNPq.