

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

DETERMINAÇÃO DO TEOR DE AMIDO EM ALIMENTOS POR HIDRÓLISE ÁCIDA

Wiliam Miguel GRÄF*¹, Julia Fernanda FRIEDEIN¹, Clóvis Clênio Diesel SENGER¹,
Gisele Lutz MARTINS¹, Vítor Augusto Schütt ZIZEMER¹, Gilberto Vilmar
KOZLOSKI¹

*autor para correspondência: wiliangraf@gmail.com

¹Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil

Abstract: The purpose of this research was to test an acid hydrolysis method to determine starch in comparison to an enzymatic method. Firstly, two pure substrates (starch and cellulose), were hydrolyzed at 110°C in an autoclave with three different sulfuric acid concentrations (0.3M, 0.4M and 0,5M), and the monomeric units resulting were analyzed by glucose oxidase method. After choosing the best condition of acid hydrolysis, 12 samples were analyzed by the acid and enzymatic (Amyloglucosidase) hydrolysis methods. The results of the first part of the study showed that acid concentration had no influence on starch or cellulose hydrolysis and all of concentrations were efficient to hydrolyze 100% of starch and negligible amount of cellulose. Hence, the best choice is the less concentrated solution (0.3M), because it is safer and cheaper. The comparison between acid and enzymatic hydrolysis methods was made by simple linear regression. The starch content of samples obtained by acid hydrolysis may be considered equivalent to results obtained by enzymatic hydrolysis. Therefore, starch content of food samples may be determined by an acid hydrolysis with sulfuric acid 0.3M at 110°C for 60 min, followed of a glucose determination by glucose oxidase method.

Palavras-chave: starch, acid hydrolysis, amyloglucosidase, carbohydrates

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

Introdução

Os carboidratos constituem uma fração de grande importância energética na composição bromatológica dos alimentos destinados aos animais ruminantes, representando 50% a 80% da matéria seca desses alimentos. A técnica amplamente utilizada e reportada na literatura para a determinação do teor de amido é a de hidrólise enzimática, com uso de α -amilase e/ou amiloglicosidase (Kartchner e Theurer, 1981). O método enzimático apresenta alta especificidade, porém é oneroso e sujeito a contaminação da enzima com glicose, comprometendo a precisão analítica. Além disso, segundo Macrae e Armstrong (1968), é necessária gelatinização prévia por 4h a 100°C e o tempo de hidrólise de ao menos 24h.

Alternativamente, a hidrólise do amido também pode ser realizada de forma mais prática e rápida em meio ácido. Kozloski *et al.* (1999), concluíram que a hidrólise com solução de ácido sulfúrico 0,3 M durante 3 horas é comparável ao uso de amiloglicosidase. Contudo, a hidrólise ácida pode ser acelerada a maiores temperaturas e pressão. Desse modo, o objetivo deste trabalho foi testar procedimentos de hidrólise ácida em autoclave para determinar o teor de amido em alimentos, em comparação com a técnica enzimática.

Material e Métodos

Inicialmente, dois substratos puros (amido solúvel e celulose) foram submetidos à hidrólise com H_2SO_4 a três concentrações (0,3M, 0,4M e 0,5M). Aproximadamente 0,1 g de amostra foi pesada em quintuplicata em frascos de vidros, foram adicionados 5 mL de solução ácida, vedado e tratado em autoclave a 110°C durante 60 min. Em ensaio prévio foi observado que a ampliação do tempo de hidrólise para 90 ou 120 min não alterou o grau de hidrólise do amido ou celulose (resultados não apresentados). Posteriormente, a solução resultante foi filtrada em balão de 100 mL, completando o volume com água destilada.

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

Com base nos resultados obtidos com os substratos puros, foi escolhido um dos procedimentos de hidrólise ácida (i.e. 0,3 M), que foi comparada à hidrólise enzimática para determinação do teor de amido em 12 amostras de alimentos entre concentrados e volumosos. O procedimento de hidrólise enzimática foi baseado no método descrito por Kartchner e Theurer (1981), submetendo-se 0,1 g de amostra a gelatinização com 5 mL de água por 60 min a 120°C em autoclave. Posteriormente, adicionou-se 5 mL de solução tampão 0,2 M de acetato de sódio, ajustada para pH 4,5 com Ácido Acético, 0,1 g da enzima amiloglicosidase (de *Rhizopus mold*, em pó, 22.500 unidades/g, SIGMA) e incubado por 48h em estufa a 60°C. A solução resultante foi filtrada em balão de 100 mL e completado o volume com água destilada. A concentração de glicose no filtrado, tanto da hidrólise ácida como da enzimática foi determinado pelo método da glicose-oxidase usando kit comercial. O teor de amido na amostra (% na MS) foi calculada como: $((\text{mg glicose/ml} \times 100 \text{ml}) / 1.10) / \text{mg MS substrato} \times 100$.

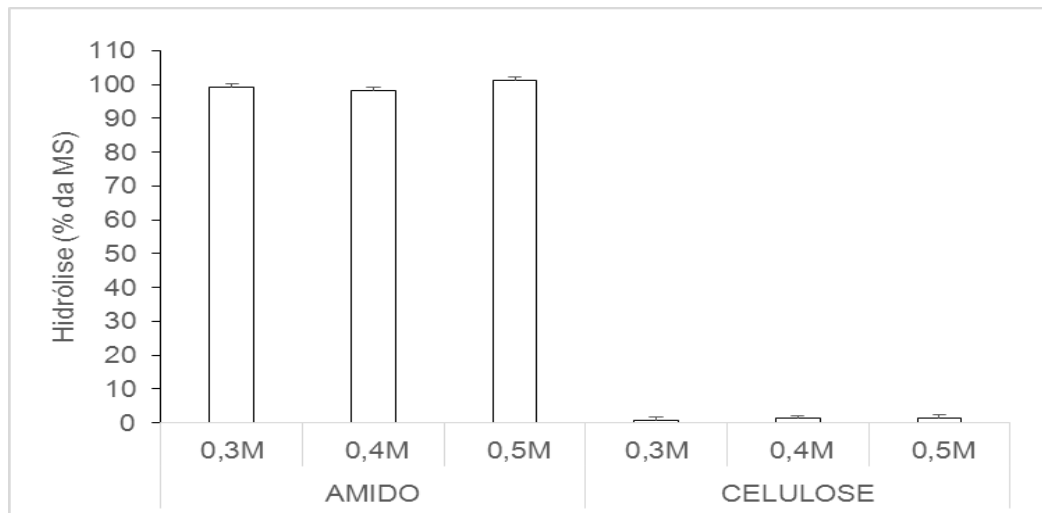
Os resultados foram comparados por meio de uma regressão linear simples. Foi testado se a intercepta é diferente de zero e se o coeficiente angular é diferente de um, com o intervalo de confiança (IC) de 95%, calculado com ± 2 vezes o erro padrão de cada parâmetro.

Resultados e Discussão

Os resultados da primeira etapa indicaram que, independente da molaridade da solução ácida, o amido foi totalmente hidrolisado e quantidade desprezível (i.e. próxima a zero) de glicose foi liberada pela hidrólise da celulose (Figura 1).

Figura 1 - Grau de hidrólise do amido e celulose submetidos à digestão em autoclave a 110°C durante 60 minutos em solução ácida (H₂SO₄) de diferentes molaridades. (Valor-p > 0,05; n = 5)

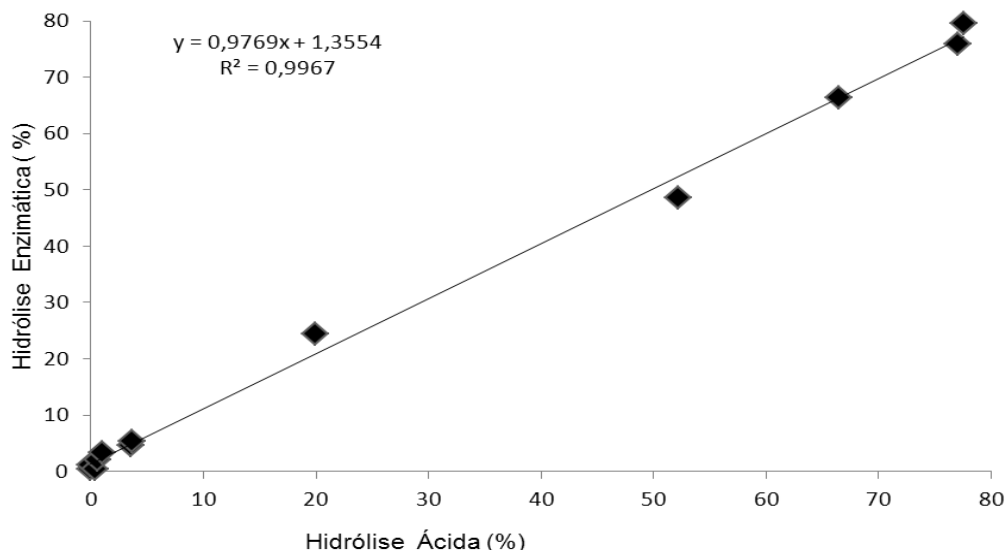
CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL



Desse modo, concluiu-se que a opção pela condição ácida mais branda (H_2SO_4 0,3M) constitui-se em procedimento eficiente, relativamente mais seguro e menos dispendioso que os demais, e foi utilizado então na segunda etapa do estudo. Os resultados da segunda etapa indicaram que os teores de amido das amostras de alimentos submetidas à hidrólise ácida foram linearmente similares ($R^2=0,99$) aos obtidos pela hidrólise enzimática (Figura 2). Calculado com base no erro padrão, o IC do coeficiente de regressão variou de 0,94158 a 1,0122 e, o da intercepta, variou de $-0,07066$ a 2,78145. Desse modo, o coeficiente de regressão da equação linear não foi diferente de 1 e a intercepta não foi diferente de 0.

Figura 2 - Relação entre teores de amido analisados em amostras de alimento por digestão ácida (H_2SO_4 0,3 M) em autoclave a $110^\circ C$ por 60 minutos ou por hidrólise com amiloglicosidase. Erro padrão: intercepta, 0.713; coeficiente de regressão, 0.0176. $n = 12$

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL



Conclusão

O teor de amido dos alimentos pode ser determinado por hidrólise com H₂SO₄ 0,3 M em autoclave a 110°C por 60 min e posterior análise da glicose liberada pelo método glicose-oxidase.

Referências

- KARTCHNER, R.J.; THEURER 1981 B. Comparison of hydrolysis methods used in feed, digesta and fecal starch. J Agric Food Chem 29:8± 11.
- KOZLOSKI, G.V.; ROCHA, J.B.T.; RIBEIRO FILHO, H.M.N.; PEROTTONI, J. 1999 Comparison of acid and amyloglucosidase hydrolysis for estimation of non-structural polysaccharides in feed samples. Journal of the Science of Food and Agriculture. v.79: p.1112-1116.
- MACRAE, J. C. e ARMSTRONG, D. G. 1968. Enzyme method for determination of alfa-linked glucose polymers in biological materials. Journal of the Science of Food and Agriculture. v.19: p.578-581.