



NOVA METODOLOGIA DE DOSAGEM DE AÇÚCARES REDUTORES CONFERE MAIOR VELOCIDADE À ANÁLISE DE PARÂMETROS DE PROCESSOS FERMENTATIVOS

Junior Romeo Deoti ¹

Angela Alves dos Santos ²

Sérgio Luiz Alves Júnior ³

A glicose e a frutose são dois dos principais carboidratos utilizados por leveduras em processos de fermentação alcoólica, dentre os quais se destacam a produção de vinho, cachaça e etanol combustível de primeira geração. Ambos monossacarídeos, por terem seu carbono anomérico livre, o que os habilita a participarem de reações de óxido-redução como agentes redutores, são classificados como açúcares redutores. A detecção desses carboidratos é importante não só no início dos processos citados, para saber o percentual teórico de etanol que pode ser obtido, como também durante e no fim da fermentação, para avaliar a velocidade de consumo dessas fontes de carbono e o quanto de açúcar deixou de ser fermentado reduzindo a eficiência do processo. O método colorimétrico mais amplamente utilizado para detecção de açúcares redutores utiliza o reativo DNS, que contém ácido 3,5-dinitrosalicílico como agente oxidante, o qual diante de glicose ou frutose se reduz a um composto corado (ácido 3-amino-5-nitrosalicílico) que pode ser detectado por espectrofotometria a 540 nm. Essa metodologia, entretanto, requer, mesmo nos protocolos mais econômicos, ao menos 150 mL de reagente, e leituras individuais de amostras em espectrofotômetro, promovendo um dispêndio significativo de tempo para a análise de açúcares redutores. No intuito de diminuir os custos com a dosagem desses carboidratos e acelerar a análise de amostras em processos produtivos e/ou laboratórios de pesquisa, adaptamos a referida metodologia para leitura em microplacas de 96 poços a 490 nm. Desse modo, padronizamos a reação para que em cada poço da microplaca fossem utilizados 25 mL de amostra (diluídas conforme necessidade, de modo que suas leituras ficassem dentro da curva de calibração) e apenas 25 mL de reagente, que, por ser em microplaca, pôde ser pipetado com micropipetadores multicanais, permitindo a

¹ Acadêmico do Curso de Engenharia Ambiental, Campus Chapecó, UFFS, Bolsista UFFS.
jrdeoti@yahoo.com.br

² Acadêmica do Curso de Engenharia Ambiental, Campus Chapecó, UFFS, Bolsista UFFS.
angela.asds@gmail.com

³ Professor Adjunto II, Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Chapecó.
slalvesjr@uffs.edu.br

adição do DNS a oito poços simultaneamente. As reações se processaram em microplacas seladas com filme plástico a 100°C por 5 minutos. Em seguida, 330 mL de água destilada foram adicionados aos poços e cada placa foi inteiramente lida em aproximadamente 100 segundos, apresentando os dados tratados, em planilhas de Excel. As dosagens de glicose e frutose realizadas através desta nova metodologia foram comparados à quantificação desses açúcares nas mesmas amostras através de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC). Em 60 amostras comparadas, com concentrações de açúcar que variaram entre 0 e 20 g/L, os valores que obtivemos em microplacas diferiram em menos de 5% daqueles obtidos através da análise em HPLC. Desse modo, o método padronizado através do presente trabalho se mostra validado, revelando-se portanto uma metodologia rápida e de baixo custo para a quantificação de açúcares redutores.

Palavras-chave: glicose; frutose; DNS; leitor de microplaca.