

Comparação entre os métodos de Lane-Eynon e polarimétrico para determinação de amido em farinha de mandioca

The Lane-Eynon technique and the polarimetric assay performance for determining starch in manioc

RIAL A6/1204

Fabíola Lopes Caetano MACHADO¹, Gisélia CAMPOS^{2*}, Mariana Temponi Godinho SOUZA³

*Endereço para correspondência: Av. Amazonas, nº 4080, sl 203, Bairro Barroca, Belo Horizonte, MG, Brasil, CEP 30480-000, e-mail: giseliacampos@oi.com.br; mtemponi@gmail.com

¹Rede Metrológica de Minas Gerais, MG, Brasil.

²NUGAP – Núcleo Global de Análise e Pesquisa Ltda, Belo Horizonte, MG, Brasil.

³Biomedicina da Unifenas de Belo Horizonte, MG, Brasil.

Recebido: 22.08.2008 – Aceito para publicação: 08.04.2009

RESUMO

Foram analisadas amostras de farinha de mandioca por meio das técnicas de Lane-Eynon e de polarimetria para determinação de amido, a fim de avaliar o desempenho de ambas as metodologias. Foi utilizado o teste de Student para comparar os resultados obtidos por meio dessas duas técnicas e foram calculados os valores da média, do desvio padrão e do coeficiente de variação dos resultados obtidos de análises realizadas em replicata. Não houve diferença significativa entre os dois ensaios em nível de 5%. As duas técnicas mostraram-se precisas e exatas, porém requerem técnicos adequadamente treinados. A técnica polarimétrica apresenta vantagens por ser de execução mais rápida e de menor custo. A técnica de Lane Eynon pode ser empregada como ensaio alternativo, conforme a disponibilidade tecnológica do laboratório.

Palavras-chave. farinha de mandioca. amido. Lane-Eynon. ensaio polarimétrico.

ABSTRACT

The Lane Eynon and polarimetric techniques performance were assessed in determining starch in manioc flour samples. The Student's t-test was used to compare both methodologies and to calculate the average, the standard deviation and the coefficient of variation of the results obtained from replicate assays. No significant differences were shown between both methodologies at 5% level. Both techniques proved to be accurate, although highly trained technicians are required. Nevertheless, the use of polarimetric methodology showed advantages because it is faster and easy to perform, and of low cost. The Lane Eynon technique might be employed as an alternative assay, according to the laboratory conditions availability.

Key words. manioc flour, starch, Lane-Eynon, polarimetry.

INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de mandioca, tendo produzido 25,4 milhões de toneladas em 1995, numa área cultivada de 1,96 milhões de hectares¹.

De acordo com estudos de Cereda², a mandioca é uma raiz eminentemente calórica, sendo o amido o principal carboidrato. Esta apresenta, em média, 62,0% de umidade, 1,3 % de fibras, 34,0% de carboidratos e 1,1% de cinzas.

Dentre os muitos subprodutos obtidos da mandioca, a farinha é considerada o principal produto processado, absorvendo cerca de 70 a 80% da produção mundial da raiz³. Ele é destinado em grande parte ao comércio interno, não apresentando valor relevante como produto de exportação⁴.

A farinha de mandioca é o produto obtido pela ligeira torração da raladura das raízes de mandioca previamente descascadas, lavadas e isentas do radical cianeto. O produto submetido à nova torração é denominado farinha de mandioca torrada.

Segundo a Portaria nº. 554, de 30 de agosto de 1995/Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA)⁵ a Farinha de Mandioca seca é classificada nos subgrupos Fina Beneficiada, Extra Fina, Fina, Grossa, Média, Bijusada, sendo, em cada subgrupo, os tipos 1, 2 e 3, considerando os seus aspectos físicos e químicos, dentre estes, os teores de amido, umidade, acidez e cinzas.

O método de Lane-Eynon é muito aplicado em farinha de trigo, mandioca ou amostras que contenham alto teor de amido. Este é um método titulométrico baseado na hidrólise completa do amido até glicose, que reduz o cobre do reagente de Fehling a óxido de cobre⁶, porém o método mais recomendado para sua determinação é o da polarimetria^{7,8}. Seu fundamento está no valor do desvio da luz polarizada ao atravessar uma quantidade já determinada de uma solução opticamente ativa⁹. Neste caso, realiza-se a hidrólise branda do amido com solução de HCl 0,31M.

O objetivo deste trabalho foi comparar os resultados obtidos na determinação de amido por dois métodos oficiais¹⁰, considerando-se que o de Lane-Eynon é muito utilizado e o da polarimetria é o indicado pelo Ministério da Agricultura por ser o recomendado pela Comunidade Econômica Europeia (EEC). Os resultados obtidos possibilitariam os laboratórios de análise de alimentos a uma alternativa metodológica, sem prejuízo da exatidão e precisão dos resultados, levando também em consideração,

a limitação de custo do método Polarimétrico, pois o preço de um polarímetro varia de, aproximadamente, R\$ 3.000,00 a R\$ 50.000,00.

MATERIAL E MÉTODOS

■ Amostragem

Para o teste de repetibilidade, foram utilizadas amostras de uma farinha de mandioca fina tipo 2 adquirida no comércio, em Belo Horizonte/MG, denominadas de A e B para o método polarimétrico e C para o método de Lane Eynon. Para os testes de recuperação, amostra D, e também, amido padrão marca Synth, com teor de 0,4% de cinzas e 8% de umidade.

Para a comparação dos resultados entre os dois métodos, foram utilizadas nove amostras de farinha de mandioca, analisadas pelo método polarimétrico, no Laboratório CLAPAR/Maringá, codificadas e enviadas ao laboratório NUGAP/MG.

MÉTODOS

■ Polarimetria

O preparo da amostra consistiu em homogeneizar e passar por tamis 16 Tyler/Mesh. Para a determinação da rotação óptica total (PR) pesou-se 2,5g para a digestão com HCl 0,31N em banho-maria fervente. Em seguida foi feito o resfriamento, adição de água deionizada e a adição dos clarificantes. Após o ajuste do volume com água deionizada, foi realizada filtração e leitura a 20 °C no polarímetro, usando água deionizada como branco. Para eliminar interferência de outras substâncias como glicídios redutores e não redutores, caso presentes, determinou-se a rotação óptica de substâncias solúveis em etanol (PB), da seguinte forma: pesou-se 5 g da amostra para balão volumétrico de 100mL, diluindo-se com etanol 40%. Pipetou-se 50 mL desta solução e procedeu-se à digestão com 2,1 mL de HCl 25%, em banho-maria com refluxo, seguindo-se o procedimento descrito acima, a partir do resfriamento no preparo da amostra.¹¹

Para os estudos preliminares, foi utilizada uma amostra de farinha de mandioca adquirida no comércio em Belo Horizonte, analisada inicialmente em 10 (dez) repetições para padronização do procedimento. Posteriormente analisou-se outra amostra em 8 (oito) repetições. Foi utilizado o Polarímetro Polax WXG4 do laboratório da Unifenas de Belo Horizonte/MG.

Para a comparação dos resultados obtidos pelos métodos polarimétrico e de Lane Eynon, a análise polarimétrica foi realizada no Laboratório CLASPAR/ Maringá, credenciado pelo MAPA para análises físicas e químicas de produtos derivados da mandioca, utilizando polarímetro marca Atago, modelo PX 552.

O teor de amido na amostra foi obtido aplicando-se a fórmula:

$$\% \text{ amido} = \frac{2000 \times (\text{PR} - \text{PB})}{[\text{J}]_I^{20}}$$

Onde:

$[\text{J}]_I^{20} = 184,8$ (específico da farinha de mandioca);
PB=Prova Branco; PR= Prova Real;

Fator 2000 = 100 (conversão do resultado em %) x 40 (foi tomado 2,5g da amostra) / 2 (o comprimento do tubo em dm)

■ Lane Eynon

O método de Lane-Eynon é um método oficial, mais acessível e usado rotineiramente, como demonstrado no trabalho de controle interlaboratorial Interlab XV, realizado pela CIENTEC, onde, de 42 laboratórios envolvidos no projeto, 39 determinaram o teor de amido por este método. As análises foram realizadas no laboratório NUGAP/BH, conforme procedimento operacional deste laboratório:

Pesou-se 2g da amostra tamisada em tamis 32 Tyler/Mesh, adicionou-se cerca de 80mL de água deionizada, procedendo-se ao aquecimento até fervura. Adicionou-se 15 mL de HCl 37% mantendo o aquecimento por uma hora e meia a aproximadamente 100 °C, com refluxo. Em seguida foi feita a neutralização com NaOH, a transferência para um balão de 250 mL, a clarificação com acetato de zinco 1M e ferrocianeto de potássio 0,25 M. Completou-se o volume com água deionizada e realizou-se a filtração.^{10,11,12}

Para realizar os cálculos, utilizou-se o fator da solução de Fehling, determinado por uma solução de glicose a 1%. O resultado foi convertido em g de amido por 100g de amostra, ao ser multiplicado pelo fator de conversão 0,9.

■ Processo de coleta e análise de dados (Delineamento experimental)

Para o estudo da precisão do método polarimétrico¹³ foram realizadas dez repetições, denominada amostra A e

oito repetições, denominada amostra B. Para o método de Lane Eynon foram realizadas seis repetições, amostra C.

Na comparação dos métodos, polarimétrico e Lane-Eynon, utilizou-se a técnica de pareamento. A equivalência dos resultados foi avaliada pelo teste-T de Student Pareado testando-se a hipótese $H_0: \bar{d} = 0$. Sendo $d_i = x_i - y_i$ conforme tabela 1. Os métodos são considerados estatisticamente iguais se a diferença média dos pares de resultados \bar{d} for estatisticamente igual a zero.

Para os testes de recuperação, foram analisadas amostras de amido padrão marca Synth, com teor de 0,4% de cinzas e 8% de umidade em triplicata, amostras de farinha de mandioca (amostra D) em cinco repetições e amostras de farinha preparadas, nas quais foram substituídos 10% do peso utilizado na análise, pela mesma quantidade de amido padrão, em seis repetições para cada método, sabendo-se que o peso total da amostra para o método de Lane-Eynon e Polarimetria, são 2,00g e 2,50g, respectivamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como estudo preliminar, foi analisada uma amostra de farinha de mandioca fina tipo 2 por polarimetria em dez repetições. Esta amostra foi analisada no Laboratório Claspar de Maringá, também por polarimetria, e apresentou um resultado de 86,96% de amido referente à amostra A, portanto bem mais alto que a média de 69,12% dos resultados encontrados no laboratório da Unifenas de Belo Horizonte/MG. Verificou-se então a necessidade de uma melhor padronização do método, com ênfase na importância da temperatura do banho-maria, do tempo e da agitação, formando uma massa homogênea de amostra, na fase da hidrólise. As modificações foram introduzidas conforme orientação do Laboratório da CLASPAR¹⁴ e realizadas novas análises, em oito repetições, atingindo uma média de 84,97%.

Para o método Polarimétrico foi observado neste trabalho e confirmado pela CLASPAR¹⁴, que para a farinha de mandioca a leitura do PB foi menor que o limite de detecção do polarímetro WXG-a, ou seja, menor que 0,05°, indicando a ausência de substâncias solúveis em etanol, neste produto. O limite de detecção do método não foi determinado, pois não se trata de quantidade traço.¹⁴

A amostra A, com média de 69,12% e desvio padrão de 0,83, possui coeficiente de variação igual a 0,01%; já a B, 84,97%, 0,83 e 0,0097%; e a C 81,17%, 1,77 e 0,02%, respectivamente.

Os testes de repetibilidade objetivaram reduzir índice de erros, amenizar falhas técnicas e aperfeiçoar o manipulador. Após realização destes, foram realizadas as análises que levaram à conclusão deste estudo, o qual é comentado a seguir:

Analizando os resultados da Tabela 1, por meio do teste-T Pareado, aceita-se H_0 , ou seja, não existe diferença significativa entre os métodos a um nível de significância de 0,05, uma vez que, o valor de t calculado_(gl=8; 95%) = 1,52 é inferior ao t crítico_(bicaudal, gl=8, 95%) = 2,31, onde, gl é graus de liberdade.

Para os testes de recuperação, foram realizadas análises referentes ao teor de amido do amido padrão da marca Synth no Laboratório da Unifenas/BH pelo método polarimétrico. O resultado foi de 85,50% correspondendo a 93,33% de recuperação. Para a amostra de farinha D, o teor médio encontrado foi de 82,79% e o da farinha preparada foi de 84,32%, o que corresponde a 102,06% de recuperação.

Já para o método de Fehling, cujas análises foram realizadas no Laboratório NUGAP/BH, o teor de amido do amido padrão foi de 88,66% correspondendo a 96,78% de recuperação. Para a amostra de farinha D, o teor médio encontrado foi de 82,12% e o da farinha preparada foi de 82,20%, o que corresponde a 99,21% de recuperação.

Aplicando o teste-T entre médias com variâncias diferentes concluiu-se que não houve diferença significativa entre as médias dos valores de recuperação encontrados

pelos dois métodos, a um nível de significância de 0,05. Pelo teste F percebe-se que existe diferença significativa entre as variâncias dos resultados de recuperação encontrados pelos dois métodos sugerindo que há uma variabilidade maior para os valores encontrados pelo método de Lane-Eynon.

CONCLUSÃO

Pelo resultado do teste de comparação pareada conclui-se que não há diferença significativa dos resultados obtidos pelos dois métodos em questão ao nível de 5%.

Tanto o método polarimétrico quanto o de Lane-Eynon, demonstraram ser precisos, mas exigem um treinamento adequado do técnico. O método polarimétrico apresentou a vantagem de ser mais rápido, mais econômico relativo a uso de reagentes, podendo ser realizado em polarímetro simples de custo acessível. Concluímos que o laboratório deve adotar preferencialmente o método polarimétrico e utilizar o método de Lane-Eynon como alternativo.

AGRADECIMENTOS

À tradutora Carolina T. Costa, ao laboratório CLASPAR, Maringá, ao laboratório da Unifenas de Belo Horizonte, MG e a Ana Paula L Mota.

Tabela 1. Resultados da determinação do teor de amido em farinha de mandioca pelos métodos polarimétrico e Lane-Eynon, e comparação dos mesmos

Amostra Farinha de mandioca	Método de Lane-Eynon (lab. NUGAP) - x_i (%)	Método Polarimétrico (lab. Claspar) - y_i (%)	d_i
849	84,25	82,61	1,64
851	80,73	82,61	-1,88
852	73,36	69,57	3,79
858	84,32	83,70	0,62
859	82,17	83,70	-1,53
864	88,69	83,70	4,99
865	88,29	86,96	1,33
866	82,37	82,61	-0,24
868	79,82	78,26	1,56

REFERÊNCIAS

1. Silva JR, Vegro CLR, Assunção R, Pontarelli CTG. A agroindústria de farinha de mandioca nos estados de São Paulo e do Paraná, 1995. *Informações econômicas*, São Paulo; 1996, 26(3): 69-83
2. Cereda MP, Daiuto ER, Vilpoux O. Metodologia de determinação de amido digestão ácida em microondas; Rev. Associação Brasileira dos Produtores de Amido de Mandioca; Série on-line 2004 2(8) Disponível em: <http://www.abam.com.br/revista/revista8/metodologia.php> [Citado 2008, setembro]
3. Chuzel G, Zakharia N, Cereda MP. Potencialités de nouveaux produits dérivés du manioc au Brésil. 2002. In: EGBE, T. A.; Brauman, A.; Griffon, D.; Treche, S. (Eds.). *Transformation alimentaire Du manioc*. Paris: Orstom; 1995. p. 63-74.
4. Câmara GMS, Godoy OP, Marcos Filho J, Lima UA. Mandioca: produção, pré-processamento e transformação agroindustrial. São Paulo, Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia do Estado de São Paulo; 1982.
5. Brasil. Portaria nº554 de 1995 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 30 ago. 1995, Seção 1, nº554, p. 13515.
6. Carvalho GGP, Fernandes FEP, Pires AJV. Métodos para determinação dos teores de amido e pectina em alimentos para animais. *Revista Eletrônica de Veterinária REDVEST*, v.2, n.1, 2006. Disponível em: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n010106/010604.pdf>
7. Balch RT. Rapid determination of starch (root) with sodium hypochlorite; *Ind. Eng. Chem., Anal.* 13 ed; 1941. p. 246-8.
8. Instituto Adolfo Lutz. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. *Métodos Físico-Químicos para análise de alimentos*. 2ed. São Paulo, SP, IMESP, 1976, p. 44-8.
9. GOLD LAB Artigos para Laboratório. *Manual de instruções: Polarímetro WXS4*. Ribeirão Preto, SP; 2007.
10. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 16 ed., P Cunniff. Arlington, Virginia, USA; 1995.
11. Instituto Adolfo Lutz (São Paulo - Brasil). *Métodos físico-químicos para análise de alimentos: normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. 4ª ed. Brasília (DF): ANVISA; 2005.1018pp.
12. NUGAP Núcleo Global de Análise e Pesquisa Ltda. *POP Determinação de amido por volumetria*. FQ 010, 2ª revisão. Belo Horizonte, MG; 2008.
13. INMETRO DOQ-CGCRE-008 Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaios Químicos. Rio de Janeiro. Brasil. 2002.
14. CLASPAR Empresa Paranaense de Classificação de Produtos. *POP Determinação de Amido*. 2ª revisão. Maringá, PR; 2007.