

MODIFICAÇÕES NO MÉTODO CIAT PARA DETERMINAÇÃO DE AMILOSE

Francisco Carlos Deschamps⁽¹⁾, Gabriel Deschamps Fernandes⁽²⁾. ¹ EPAGRI – Estação Experimental de Itajaí. Caixa Postal 277, 88301-970, Itajaí - SC. xicodsc@epagri.rct-sc.br, ² Acadêmico do curso de Ciências Biológicas – Biotecnologia/UNIVALI.

O conhecimento do teor de amilose é de grande importância para os programas de melhoramento e seleção dos cultivares de arroz, por ser determinante para as características culinárias dos materiais selecionados. Cultivares com baixo teor de amilose (<20%) apresentam grãos aquosos e pegajosos ao cozimento, enquanto nos de teor mais elevado (>25%) os grãos são soltos, secos e duros. Já os de teor intermediário (20 – 25%) apresentam grãos enxutos, soltos e macios, sendo os preferidos pelo consumidor brasileiro e consequentemente os mais comercializados (Pereira e Rangel, 2001).

Métodos para determinação de amilose apresentam variações nos procedimentos e na instrumentação analítica utilizada. O método colorimétrico para determinação de amilose descrito pelo CIAT (Arregoces, 1980), é considerado de referência e amplamente utilizado pelas instituições brasileiras que trabalham com arroz. Pode-se considerar entretanto, que a marcha analítica deste método é trabalhosa, pois utiliza grande quantidade de vidrarias, resultando em maior tempo de análise. Por outro lado, é um método de baixo custo e que utiliza equipamentos e reagentes facilmente encontrados na maioria dos laboratórios de pesquisa. Métodos que utilizam instrumentação mais sofisticada, como a calorimetria diferencial (Gonzales et al., 2004), significam investimentos nem sempre disponíveis na maioria dos laboratórios de pesquisa do Brasil.

No presente trabalho procurou-se otimizar alguns passos do método originalmente proposto pelo CIAT, como forma de agilizar a marcha analítica, reduzir o tempo de análise e aumentar a produtividade no laboratório. Na Figura 1 pode-se observar o esquema da marcha analítica com as etapas das duas metodologias.

Para o estabelecimento da equivalência entre os métodos foram selecionadas 3 amostras de cultivares de arroz que apresentavam teores de amilose baixo, médio e alto. Para buscar a máxima variabilidade entre as repetições, as amostras foram processadas em duplicata, em dias alternados, até alcançar 6 repetições por amostra no método CIAT ou 8 no método EPAGRI, cujos resultados são apresentados na Tabela 1. Ainda como forma de comprovar a equivalência dos métodos, foram processadas 5 amostras de cultivares de arroz escolhidas aleatoriamente e gentilmente cedida pelo IRGA/Cachoeirinha e outras cinco originadas da EMBRAPA/CNPAG/GO, cujos teores de amilose foram determinados na origem.

Não foram observadas diferenças ($p > 0,05$) entre as médias do teor de amilose determinado pelos dois métodos nas respectivas amostras analisadas. O coeficiente de variação tende a ficar acima dos 3% para o método EPAGRI e em torno de 2% para o método CIAT. Isto pode estar relacionado às pequenas quantidades de amostra e reagentes utilizadas. Dessa forma, é importante manter atenção adicional com alguns passos da marcha, como no caso da utilização das micropipetas de volume ajustável. A adequada agitação da amostra, especialmente na fase de gelatinização, também pode contribuir para reduzir eventuais erros entre as repetições analisadas. O preparo da solução de iodo também merece atenção. Ao longo do desenvolvimento do trabalho foi preparada uma solução de iodo, que foi utilizada em ensaios paralelos por período superior a 3 semanas, sem que maiores alterações nos resultados daquelas amostras fossem observadas. Entretanto, para garantir maior segurança na reprodução dos resultados, pode-se considerar possível utilizá-la por cerca de uma semana, desde que esteja devidamente acondicionada em frasco escuro e ao abrigo da luz (envolver em papel alumínio). Observando os resultados do cultivar SC213, o método EPAGRI tende a subestimar os valores de amilose em relação ao método CIAT, sem maiores explicações aparentes. Este fato pode ser melhor ilustrado quando se observa os valores máximo e

mínimo para o processamento das oito repetições referentes ao método EPAGRI (Tabela 1). Esta tendência não foi tão marcante para os resultados das amostras oriundas do IRGA e da EMBRAPA/CNPAP (Tabela 2). Neste caso, os resultados nominais do método EPAGRI, ficaram sistematicamente abaixo dos valores de amilose determinados na origem, com destaque para a amostra 5, cuja diferença alcançou quase 2 pontos percentuais. Mesmo assim, é possível considerar estas diferenças aceitáveis de modo a não comprometer a equivalência dos métodos. Tais diferenças podem ser ainda, resultados das variações intrínsecas presentes em qualquer método analítico. Vale lembrar que estas diferenças podem ser acentuadamente maiores quando métodos com princípios distintos são utilizados, problema este inexistente no presente estudo. Como exemplo, Gonzales et al. (2004), relatam que a utilização da calorimetria diferencial implicou em valores de 2,4 unidades menores que o método colorimétrico baseado na reação do iodo como a proposta por Juliano (1979).

As adaptações propostas no método descrito neste trabalho não implicam em diferenças nos valores de amilose das amostras estudadas. Suas vantagens estão ligadas a maior simplicidade e agilidade na condução dos ensaios, com sensível redução na quantidade de reagentes e vidrarias utilizadas. Assim, pode-se prever ganhos de produtividade que resultarão na maior capacidade de processamento de amostras pelo laboratório envolvido no trabalho. Como em trabalhos de melhoramento e seleção de cultivares o número de amostras a ser avaliada é sempre grande, ganhos de produtividade são importantes para agilizar os trabalhos de seleção de novos cultivares. Como a faixa de leitura do método original é mantida nas modificações propostas no presente trabalho, valores de amilose abaixo de 10% ou mesmo acima de 50% podem ser determinados sem maiores problemas, desde que a curva de calibração seja ajustada para tal. Isto é importante na medida em que a determinação do teor de amilose no amido do arroz passe a interessar a outras aplicações industriais, além de seu tradicional uso como grão na alimentação humana. Nestes casos, teores de amilose fora dos padrões utilizados para atender aos requisitos culinários podem ser necessários.

A simplificação da marcha do CIAT proposta pode sofrer algumas adaptações de tubos/vidrarias ou mesmo de sistemas de aquecimento para poder ser desenvolvido nos diversos laboratórios que trabalham com determinações de amilose.

O método para determinação de amilose em amostra de arroz descrito, apresenta equivalência com o método descrito pelo CIAT. Portanto, pode ser adotado por laboratórios que trabalham com a caracterização de amilose em programas de melhoramento de arroz, sem a necessidade de correção de resultados anteriormente gerados.

AGRADECIMENTOS: Dra. Selma N. Koakuzu (EMBRAPA/CNPAP/GO) e Dra. Cristina Panni (IRGA/Cachoeirinha/RS) pela gentileza em fornecer as amostras de arroz com o teor de amilose determinado em seus respectivos laboratórios.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- ARREGOCES, O. (Coord.). *Evaluacion de la calidad del arroz: guia de estudio*. Cali, Colombia: CIAT, 1980.22p. (Serie 04SR-07.01).
- GONZALES, R.J.; LIVORE, A.; PONS, B. Physico-chemical and cooking characteristics of some rice varieties. **Braz. Atch. Biol. And Technol.** v.47, n.1, p.71-76. 2004.
- JULIANO, B. Amylose analysis – A review. In: Proc. Workshop on Chemical Aspects of Rice Grain Quality. IRRI. Los Baños, Philippines. P. 251-260. 1979.
- PEREIRA, J..A.; RANGEL, P.H.N. Produtividade e qualidade de grãos de arroz irrigado no Piauí. **Ciênc. Agrotec.**, v.25, n.3, p.569-575, 2001.

FIGURA 1 – Diagrama apresentando os principais passos para a determinação de amilose pelo método CIAT e EPAGRI.

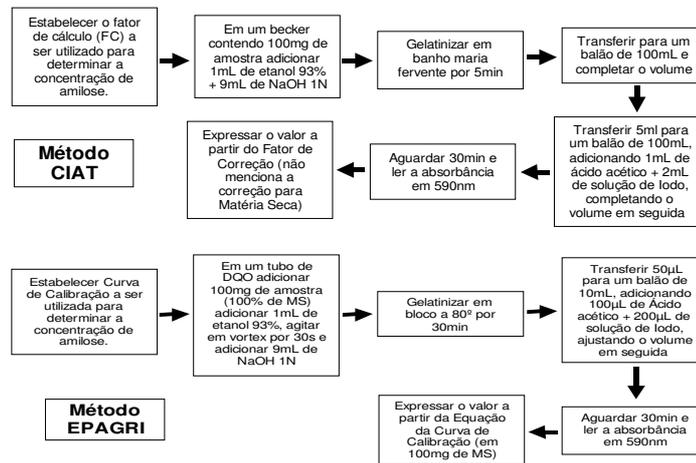


Tabela 1 – Concentração média de amilose (%/MS) em três amostras de arroz analisados pelos métodos CIAT e EPAGRI.

METODO	AMOSTRA	MÉDIA	DESV. PAD.	COEF. VAR.	INT. CONF (95%)	MÁXIMO	MINIMO	N
CIAT	SC461	9,4	0,26	2,76	0,18	9,7	9,1	6
EPAGRI	SC461	9,8	0,36	3,68	0,25	10,2	9,0	8
CIAT	L230	20,1	0,41	2,06	0,29	20,6	19,6	6
EPAGRI	L230	19,6	0,75	3,84	0,52	20,6	18,1	8
CIAT	SC213	29,5	0,58	1,97	0,40	30,1	28,5	6
EPAGRI	SC213	28,0	0,98	3,52	0,68	29,1	26,6	8

Tabela 2. Teores médios de amilose (6 repetições) de amostras originadas do IRGA/Cachoeirinha e da EMBRAPA/CNPAP, determinados na origem e pelo método EPAGRI.

Amostras	Amilose na Origem (%)	Método EPAGRI (Média de 6 rep.)	
		Amilose (%)	Desv. Padrão
IRGA1	30,0	29,8	1,81
IRGA2	30,0	30,1	1,03
IRGA3	7,0	9,8	0,82
IRGA4	21,0	21,2	1,34
IRGA5	25,0	25,1	1,71
EMBRAPA/CNPAP1	25,8	24,6	1,73
EMBRAPA/CNPAP2	24,6	24,1	0,57
EMBRAPA/CNPAP3	25,6	24,3	1,33
EMBRAPA/CNPAP4	27,4	26,3	1,07
EMBRAPA/CNPAP5	30,9	28,8	2,30