

Otimização da análise por HPLC de ácido cítrico em caldo de sorgo-sacarino (*Sorghum bicolor*).

Manuella Schneider (IC), Ezequiel Bavaresco Cremonese (PG), Valeriano Antonio Corbellini (PQ), Rosana de Cassia de Souza Schneider (PQ). manuelasch@hotmail.com

Departamento de Química e Física e Pós-graduação em Tecnologia Ambiental da Universidade de Santa Cruz do Sul, UNISC, Santa Cruz do Sul, RS, Brasil

Palavras Chave: ácido cítrico, HPLC, análise, sorgo sacarino

Introdução

O Sorgo-sacarino é uma alternativa a produção de etanol e tem potencialidade para uso em outros processos fermentativos, como na produção de ácido cítrico. A produção deste ácido pode ser feita em vários substratos vegetais¹, incluindo a inserção de misturas de resíduos, como é o desejado neste projeto. Para a quantificação deste ácido no processo fermentativo e assim, monitorá-lo por Cromatografia Líquida de alta eficiência (HPLC) nas diferentes etapas produtivas, foi otimizada a análise do mesmo no meio contendo o caldo do sorgo-sacarino, conforme realizado por Lu et al.¹ para outros substratos. Destaca-se que com este método desejava-se evitar o emprego de etapas laboriosas de extração, que não dão confiabilidade quantitativa ou de método espectrofotométrico que depende do uso de piridina e anidrido acético².

Resultados e Discussão

Os experimentos realizados foram conduzidos com diferentes concentrações do substrato e de ácido cítrico. As soluções foram preparadas em concentrações de 1 a 100 mg L⁻¹, considerando que possa se retirar um volume pequeno de meio de cultura para monitoramento do processo fermentativo. O estudo foi otimizado para o monitoramento do emprego de *Aspergillus niger* como microrganismo responsável pela produção de ácido cítrico no meio contendo caldo de sorgo-sacarino. Neste caso, a aplicação do método será realizada com a retirada de uma alíquota do meio, filtrada com uma membrana Millipore de 0,45µm e determinada diretamente por HPLC. A análise foi conduzida em um equipamento Shimadzu com bomba em modo isocrático modelo LC-20AT e Detector de arranjo de diodos modelo SPD – M 20A, com uma coluna Shim-pack CLC-ODS (M) de 25 cm, temperatura de 40°C, vazão de 0,4 mL min⁻¹ de fase móvel tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, volume de amostra injetada de 10 µL. Como resultado

observou-se que o ácido cítrico pode ser identificado no meio em estudo, conforme cromatograma da Figura 1. Observou-se que as análises devem ser feitas com amostras diluídas na faixa de até 100 mg L⁻¹, concentrações maiores levam a sobreposição dos picos do meio com o analito e inviabilizam a quantificação. Como no meio pode-se encontrar altas concentrações de ácido cítrico, a amostra após filtração, deverá ser diluída na proporção de 1:50 com fase móvel. Nestas condições foi possível para a curva um R²=0,98.

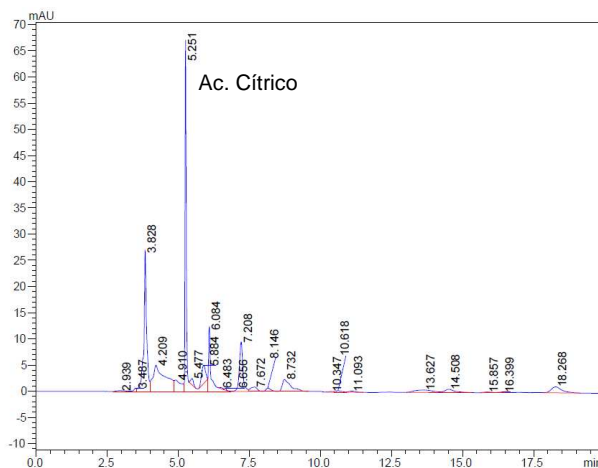


Figura 1. Cromatograma de HPLC para uma amostra com 1 mg L⁻¹ de ácido cítrico em caldo de sorgo-sacarino.

Conclusões

Concluiu-se que a análise por HPLC de ácido cítrico no substrato do caldo de sorgo-sacarino para processo fermentativo foi possível evitando etapas de extração, sendo necessário apenas a filtração e diluição.

Agradecimentos

Pelas Bolsas ITI e GM -CNPq, SCT-RS, FAP-UNISC

¹ M. Y. Lu, I. S. Maddox, J. D. Brooks, *Bioresource Technology*, **1995**, 54 (3), 235.

² Karthikeyana, A. e Sivakumar, N., *Bioresource Technology*, **2010**, 101 (14), 5552.